Nicht f. d. Austausch

Ernährungs- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an Fontinalis und Chlorella

---

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
genehmigt von der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

von

Andre Pirson
aus Erlangen

Mit 11 Abbildungen im Text

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1937

N 30

Ernährungs- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an Fontinalis und Chlorella

---

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
genehmigt von der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

von

Andre Pirson
aus Erlangen

Mit 11 Abbildungen im Text

Tag der mündlichen Prüfung: 24. Juni 1936
Tag der Promotion: 2. Juni 1937

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1937

Referenten: Prof. Dr. Kurt Noack
Prof. Dr. L. Diels

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus „Zeitschrift für Botanik“, 31. Band, Heft 4/5
Herausgegeben von Prof. Dr. Kurt Noack, Prof. Dr. Friedrich Oehlkers
u. Geh. Hofrat Prof. Dr. Friedrich Oltmanns
Verlag von Gustav Fischer in Jena

Einleitung.

Die zahlreichen Untersuchungen, welche Beziehungen zwischen Mineralsalzernährung und Stoffwechselvorgängen bei höheren Pflanzen zum Gegenstand haben, kranken trotz vieler, besonders praktisch wichtiger Befunde daran, daß sie nur selten etwas darüber aussagen können, wo in der Zelle der erste Angriffspunkt der gebotenen Salze oder deren Ionen gelegen ist und wie weit diese überhaupt spezifische und primäre Wirkungen auszuüben vermögen. Im Hinblick darauf, daß nach dem heutigen Stand der protoplasmatischen Forschung die Wirkung gerade der wichtigsten Ionen vielfach von den Gesetzmäßigkeiten abweicht, die uns von kolloidchemischen Modellen her bekannt sind, erscheint es vorläufig wenig ratsam, bei Untersuchungen von Ioneneinflüssen auf Stoffwechselvorgänge die Fragestellung durch Wahl einer höheren Pflanze als Versuchsobjekt noch zu komplizieren. Abgesehen von methodischen Schwierigkeiten der Stoffwechselmessung, individuellen Verschiedenheiten des Versuchsmaterials, Bezugsgrößenfragen u. a. ist die Gesamtorganisation einer höheren Pflanze zu differenziert, um das Wesen einer zu untersuchenden Ionenwirkung prinzipiell klar erkennen zu lassen; es braucht nur an die Schwierigkeit der Kontrolle des Stomatafaktors und der Diffusionsverhältnisse, an den langen Weg vom Ort der Ionenaufnahme bis zu den

Assimilationsorganen oder an die Einflüsse der Stoffableitung erinnert zu werden.

Wir haben uns in der vorliegenden Untersuchung die Aufgabe gestellt, aus dem vielgestaltigen Komplex der Ionenwirkungen die Beeinflussung des Assimilationsapparates als besonderen Teilvorgang herauszuarbeiten. Aus den dargelegten Gründen war für uns die Verwendung einfachster Methoden und Versuchsobjekte erste Voraussetzung. Wir wählten daher als erstes Versuchsobjekt das Quellmoos Fontinalis antipyretica, welches für Assimilationsbestimmungen keine Schwierigkeiten bietet und als Wasserpflanze dem zu untersuchenden Einfluß möglichst direkt zugänglich ist. Es hat sich für ähnliche Fragestellungen schon bei Wehner (1928) bewährt. Allerdings hat Harder (1924, 1930, 1933) in eingehenden Untersuchungen darauf hingewiesen, daß auch dieses einfache Objekt in seinem Assimilationsverhalten der Wirkung verschiedener »innerer Faktoren« unterworfen sein kann; eine diesbezügliche Voruntersuchung des Materials ist daher unerläßlich. Die Verwendungsmöglichkeit von Fontinalis ist zudem beschränkt durch die Tatsache, daß sich eine erfolgreiche Kultur unter Mangelbedingungen nicht durchführen läßt. Es konnten also damit im wesentlichen nur Fragen beantwortet werden, die sich auf den fertig ausgebildeten Assimilationsapparat der im normal zusammengesetzten Medium angezogenen Pflanzen bezogen. Um den Assimilationsapparat schon während seiner Ausbildung zu erfassen, verwandten wir die einzellige Grünalge Chlorella vulgaris f. pyrenoidosa. Chlorella ist bekanntlich gegen die verschiedensten äußeren Einflüsse sehr widerstandsfähig; ferner bleibt ihre physiologische Leistungsfähigkeit unter konstanten Versuchsbedingungen lange Zeit auf gleichmäßiger Höhe, d. h. es fehlen die mehr oder weniger unkontrollierbaren »inneren Faktoren« weitgehend, eine Eigenschaft, die sie nach Einführung in die manometrische Versuchstechnik durch Warburg zum klassischen Objekt für die Erforschung der Reaktionsmechanismen der Stoffwechselvorgänge einer grünen Pflanze werden ließ [Warburg (1928); Emerson u. Arnold (1932) u. a.]. Daneben hat sich die Alge auch bei Untersuchung der Mineralsalzernährung besonders zur Anzucht von Mangelkulturen als sehr geeignet erwiesen

[Hopkins u. Wann (1926f.)]. Durch manometrische Untersuchung solcher Kulturen mit abgestuften Chlorosegraden — erhalten durch Veränderung des Eisen-, Stickstoff- und Magnesiumgehaltes der Nährlösung — haben Emerson (1929) und Fleischer (1935) wichtige Beziehungen zwischen Chlorophyllbildung und photosynthetischer Leistung aufdecken können.

Da die vorliegende Arbeit den Ausgangspunkt für weitere Untersuchungen bilden soll, war eine auch nur einigermaßen umfassende Behandlung der zahlreichen Probleme der Ionenwirkungen nicht beabsichtigt. Wir gingen vielmehr zunächst aus von der Einzelfrage nach der Wirkung des Kaliumions auf den Assimilationsapparat. Das viel bearbeitete Problem der Beziehung des Kaliums zur Photosynthese bildet ein typisches Beispiel für die Schwierigkeiten, die höhere Pflanzen der prinzipiellen Klärung einer Ionenwirkung bieten [vgl. Schmalfuß (1936)]. Wenn wir von den Angaben über die Bedeutung der Radioaktivität des Kaliums absehen, so bleibt auch in den Arbeiten, welche direkte Stoffwechselmessungen bei veränderter Kaliernährung behandeln, die Frage ungeklärt, inwieweit ein primärer Einfluß des Kaliumions auf den Assimilationsmechanismus überhaupt besteht. Gaßner und Goeze (1934), die an abgeschnittenen, jungen Getreideblättern unter definierten Bedingungen der Stickstoffzufuhr eine konform verlaufende Steigerung von Assimilationsleistung, Chlorophyllgehalt und Transpirationsgröße feststellten, vermögen bei der vorliegenden Kopplung der Einzelvorgänge über eine primäre Wirkung des Kaliums nichts Sicheres auszusagen, wenn auch ihre Befunde vermuten lassen, daß der erste Angriff des Kaliums die Eiweißsynthese betrifft. Schmalfuß (1936) betrachtet, im Anschluß an ältere Angaben [De Vries (1884)] und von eigenen Untersuchungen über Eiweißhaushalt und Transpiration in Beziehung zur Kaliversorgung ausgehend, alle im Zusammenhang mit veränderter Kaliumernährung beobachteten Vorgänge als Begleit- oder Folgeerscheinungen der durch Kaliumionen vorzugsweise beeinflußbaren Kolloidstruktur des Plasmas und hält demzufolge eine spezifische Beeinflussung des Assimilationsapparates für unwahrscheinlich. Andererseits deuten jedoch die Versuche von Russell (1928) über eine durch Kaligabe hervorgerufene

Ernteverbesserung in Jahren mit Sonnenscheinmangel darauf hin, daß eine gewisse Wechselwirkung zwischen Lichteinfluß und Kalium bestehen muß; eine Erhöhung der Lichtausnutzung durch Kalizufuhr ist unter kontrollierten Lichtverhältnissen auch von Scharrer und Schropp (1934) durch Kulturversuche mit Erbsen nachgewiesen worden [vgl. dagegen Lemmermann und Liesegang (1930)].

Wir legten uns hinsichtlich des Kaliumproblems und seiner Beziehung zur Photosynthese folgende Fragen vor:

1. Sind am ausgebildeten Assimilationsapparat durch zusätzliche Kaliumgaben spezifische Wirkungen zu erzielen? Ist dabei die Intensität des Versuchslichtes von Bedeutung? (Photochemische und Blackmansche Teilreaktion des Assimilationsmechanismus.)

2. Welche physiologischen Eigenschaften zeigen die Assimilationsapparate von Zellen, welche in Nährlösungen verschiedensten Kaliumgehaltes angezogen wurden und welche Stoffwechselreaktionen werden an Kalimangelzellen bei Zugabe von Kaliumionen ausgelöst?

Unsere Kulturversuche an Chlorella ergaben in Übereinstimmung mit E. F. Hopkins (1934) die Notwendigkeit von Manganzusätzen geringer Konzentration. Es lag nahe, diese Erscheinung auch durch Stoffwechselmessung zu erfassen, um dadurch Anhaltspunkte für die Wirkungsweise dieses Elements zu erhalten, zumal von verschiedenen Autoren [Mc Hargue (1922), Bishop (1928)] die Ansicht ausgesprochen wird, daß das Mangan im Mechanismus der Photosynthese spezifisch wirksam sei.

Um auch ein Anion mit einzubeziehen, wählten wir das Nitration aus und richteten wie beim Kaliumion unser Augenmerk auf die Eigentümlichkeit des Stoffwechsels von Nitratmangelzellen.

Schließlich veranlaßte uns die Feststellung, daß Chlorella wie gewisse andere Chlorophyceen sich ohne oder mit geringsten Spuren von Calciumionen ungehindert vermehren kann [Schramm (1922), Pringsheim (1926)], zu untersuchen, ob das Calcium sich der Chlorellazelle gegenüber indifferent verhält.

Versuchsmaterial und Methoden.

Fontinalis antipyretica.

Das Fontinalis-Material stammte aus einem kalkarmen, stehenden Gewässer (Teufelssee bei Potsdam). Zur Anzucht wurden die Pflanzen zunächst in sehr lockerem Verband in große Bottiche mit Regenwasser gebracht; die nach mindestens zweimonatiger Kultur ausgetriebenen Sprosse zeigten äußerlich und im Rahmen der unternommenen Versuche auch physiologisch keinerlei Unterschiede. An die Vorkultur schloß sich eine Weiterzucht der frischen Sprosse im hellen Licht des Versuchsgewächshauses an. Dies war notwendig, damit eine einheitliche und vergleichbare Assimilationsgröße gewährleistet war; denn bei Sprossen, welche an helles Licht angepaßt sind, spielen die von Harder beschriebenen Leistungsdepressionen der Photosynthese selbst bei höherer Versuchsbeleuchtung eine geringere Rolle als bei Schattenpflanzen. Erstreckten sich Versuche mit zahlreichen Assimilationsbestimmungen an demselben Material über mehrere Tage, so wurde in der zwischen den Bestimmungen liegenden Zeit unter konstanten Temperaturbedingungen entweder verdunkelt oder für ganz gleichmäßige Belichtungsverhältnisse Sorge getragen. Bei kürzer dauernden Versuchen wurden die zur Assimilationsmessung bestimmten Sprosse vom Abend des Vortags bis zur Messung am Morgen des Versuchstages, d. h. 12 bis 14 Stunden, verdunkelt.

Die Temperatur für die Anzucht betrug 20—22° C, die Versuchstemperatur 20,5°. Für Versuche mit starker Anzuchtbelichtung in künstlichem Licht befanden sich die die Sprosse enthaltenden Aquarien und Filtrierstutzen in einer großen Zinkwanne, die von einem langsamen Wasserstrom durchspült und dadurch auf der gewünschten Temperatur erhalten wurde.

Die Assimilationsmessungen wurden zunächst nach der Winklerschen Methode der jodometrischen Sauerstofftitration vorgenommen. Die Methodik ist in ihren Einzelheiten von Harder und von Ehrke (1934) eingehend beschrieben worden; es soll daher hier nur auf wenige Besonderheiten unserer Ausführung hingewiesen werden.

Als Versuchslichtquelle diente eine Osram-Nitralampe »für

Serienschaltung« (2000 Watt, 170 Volt) in Verbindung mit einem Siemens-Tiefstrahler. Sie konnte bis auf 25 cm an die in einem Wasserbad befindlichen Assimilationskolben herangebracht werden (45000 Lux unter Wasser).

Zur Ausschaltung der besonders bei stärkerer Beanspruchung des städtischen Kraftstromnetzes auftretenden Spannungsänderungen diente ein System parallel geschalteter Eisenwasserstoffwiderstände (7 mal 1,65 Amp., 25—75 Volt, angefertigt von der Firma Osram). Diese waren so bemessen, daß die gesamte zu vernichtende Spannung (220—170 = 50 Volt) im mittleren Bereich der Regulierungscharakteristik lag. Dadurch erübrigte sich die Benutzung eines zusätzlichen Vorschaltwiderstandes (vgl. Ehrke) und zugleich war der Bereich der ausgleichbaren Spannungsschwankungen maximal, d. h. $\pm$ 25 Volt = 11,3 % der Netzspannung. Diese Anordnung gestattete daher, die stärksten der auftretenden kontinuierlichen Schwankungen zu beseitigen. Kurz dauernde Stromstöße dagegen werden naturgemäß von Eisenwasserstoffwiderständen nicht eliminiert. Der beim Einschalten auftretende, Lampe und Widerstände gefährdende Stromstoß, wurde durch einen Schieberwiderstand abgefangen. Nach Erwärmung der Widerstandsröhren wurde dieser vollkommen ausgeschaltet. Die Stromstärke wurde dauernd am Ampèremeter überwacht; sie betrug 11,5 $\pm$ 0,1 Amp.[1]. Die Schwankungen der Stromstärke lagen also unter 1 %. Die Konstanz der Lichtintensität selbst wurde kontrolliert durch eine Sperrschicht-Photozelle, welche an ein in Lux geeichtes Ampèremeter mit zwei Meßbereichen angeschlossen war. Die Lichtmessung unter Wasser wurde durch eine wasserdichte Verkapselung ermöglicht, wobei die photoelektrische Schicht durch Filterscheiben verschieden starker, bekannter Extinktion abgedeckt wurde. Das Instrument besitzt einen Meßbereich von 1—100000 Lux.

Die Temperatur des die Assimilationskolben aufnehmenden Wasserbades wurde durch einen leistungsfähigen Synchronmotor-Rührer und durch kontinuierlichen Zu- und Abfluß von Kaltwasser konstant gehalten (20,5°).

[1]) Herrn Dr. Oswald Schmidt danke ich für seine wertvolle Hilfe bei der Herstellung dieser Anlage.

Da Fontinalis-Material in reichlicher Menge zur Verfügung stand, wählten wir zum Unterschied von Harder und Ehrke größere Assimilationsgefäße, die für jeden Versuch mit mehreren Sprossen beschickt wurden. Dadurch sollten individuelle Unterschiede der einzelnen Sprosse ausgeschaltet und somit die gleichzeitig nebeneinander laufenden Versuchs- und Kontrollreihen besser vergleichbar gemacht werden; dabei war auf eine möglichst gleichmäßige Lagerung der Sprosse in dem flachen Versuchsraum der Kolben zu achten. Bei Verwendung großer, 180—200 ccm fassender Assimilationsgefäße wurden je nach der Lichtstärke des Versuchslichtes 5—25 Sprosse gewählt. Besser noch bewährten sich etwa 20 ccm fassende Flachkolben, welche je 4—5 Sprosse (Trockengewicht ca. 20 mg) erhielten. Durch Drehen der gefüllten Kolben wurde eine gleichmäßige Verteilung der einzelnen Sprosse erzielt und durch mehrmaliges Umwenden der Kolben während des Versuchs eine evtl. noch vorhandene Unregelmäßigkeit eliminiert. Das Abfüllen erfolgte unter Verwerfen des in den Ansatzrohren befindlichen Anteils der Versuchslösung.

Die im Assimilationsversuch verwendete Lösung (Salzlösung, dest. Wasser, Leitungswasser) wurde stets mit einer optimalen Kohlensäuremenge versehen, entweder durch Einleiten von CO_2 oder eines Gemisches von Luft mit 5—10% Kohlensäure, das in einer Stahlflasche hergestellt und vorrätig gehalten wurde. Um den Sauerstoffgehalt herabzusetzen und eine überoptimale Kohlensäureanreicherung zu vermeiden, wurde die gasgesättigte Lösung in 2-Liter-Flaschen aus Jenaer Glas mit dem gleichen Volumen sauerstoff- und kohlensäurearmer Lösung (erhalten durch Erwärmen auf 35° und langsames Abkühlen auf Zimmertemperatur) versetzt, worauf die verschlossenen Flaschen durch Schütteln mit Glasperlen luftfrei durchmischt wurden. Zum Versuch wurde diese Lösung bis auf 200 ccm abgehebert. Eine Blasenausscheidung innerhalb der Versuchszeiten erfolgte in so behandelten Lösungen nicht.

Bezugsgröße der Assimilationswerte: Bei den hier vorliegenden Fragestellungen konnten wir uns auf vergleichende Beobachtung des Verlaufs der Assimilationswerte in Haupt- und Kontrollversuchen beschränken.

Die technischen Vorzüge der manometrischen Methodik (Einzelheiten im folgenden Abschnitt) gegenüber der Assimilationsbestimmung durch Sauerstofftitration (vor allem die Möglichkeit ununterbrochener Messung) ließen es wünschenswert erscheinen, diese in einzelnen Fällen auch bei Fontinalis anzuwenden. Prinzipielle Bedenken hiergegen bestehen nicht. Die als Folge des Schüttelns bei fädigen Algen auftretende Zusammenballung des Materials, welche die manometrische Messung zumeist unmöglich macht, kann bei Fontinalis vermieden werden. Freilich ist eine etwas dichtere Packung im Manometergefäß im Vergleich zum Winkler-Kolben nicht auszuschließen. Demzufolge zeigten vergleichende Messungen, daß die Absolutwerte der Assimilation bei der titrimetrischen Methode wegen der besseren Lichtausnützung etwas höher liegen, besonders natürlich im Bereich geringerer Lichtstärken. Ein direkter Vergleich der Absolutwerte manometrischer und titrimetrischer Versuche ist daher unstatthaft. Im zeitlichen Verlauf der nach beiden Methoden erhaltenen Assimilationskurven konnten dagegen keine Differenzen beobachtet werden.

Chlorella vulgaris f. pyrenoidosa.

Wir erhielten Chlorella in einer Stammkultur vom Pflanzenphysiologischen Institut der Deutschen Universität in Prag. Sie wurde auf Agar weiter kultiviert und zwar zur Kontrolle der Reinheit auch im Dunkeln auf Knop-Agar unter Pepton- und Glukosezusatz. Chlorella entwickelt sich wie andere Protococcalen bei Ausschluß von Licht unter heterotropher Ernährung bei zunächst nur wenig herabgesetzter Chlorophyllproduktion. Nötigenfalls läßt sich das Plattenverfahren unter Verwendung von 0,8proz. Agar leicht zur Gewinnung einer Rein- und Einzellkultur anwenden. Von den Agarkulturen aus wurden die weiteren Impfungen zur Anzucht im flüssigen Nährmedium vorgenommen. Diese erfolgte in Erlenmeyer-Kolben aus S.I.-Neutralgas[1]. Als »Normal«medium diente eine mineralische Lösung folgender Zusammensetzung:

[1]) Die Hauptbestandteile des Neutralglases sind: SiO_2 71,3%, Al_2O_3 5,5%, B_2O_3 11,0%, Na_2O 6,2%, K_2O 0,4%, CaO 0,5%, MgO 0,3%, BaO 3,3%, Fe_2O_3 —, ZnO 1,5%.

$Ca(NO_3)_2$ 0,01 n, $MgSO_4$ 0,01 n, NaH_2PO_4 0,008 n, KNO_3 0,01 n, $FeCl_3$ $1 \cdot 10^{-4}$ n, $MnCl_2$ $1 \cdot 10^{-6}$ n.

Alle verwendeten Lösungen sind von dieser Grundlösung abgeleitet, die Lösungen mit verändertem Kaliumgehalt z. B. durch Ersatz eines Teiles des Kaliumnitrats durch äquinormale Natriumnitratgaben. Die Mengen der in der Lösung vorhandenen Ionen schließen jede Möglichkeit einer Verarmung auch bei längerer Kultur aus. Dies ist besonders wichtig hinsichtlich der Stickstoffgabe. Von einem Zusatz von Zucker zur Nährlösung haben wir im Rahmen dieser Arbeit abgesehen. Zwar hat Emerson (1927) gezeigt, daß die Assimilationsgröße von Chlorellazellen normaler Anzucht durch die Gegenwart von Glukose nicht beeinflußt wird; es ist jedoch noch fraglich, wieweit dies auch bei Zellen zutrifft, die, unter Mangelbedingungen aufgewachsen, bei dadurch gehemmter Assimilation einen Ausweg über heterotrophe Ernährung offen haben. Die Atmung der kohlehydratfrei gezüchteten Chlorellazellen ist zudem von derjenigen der im zuckerhaltigen Medium gewachsenen Kulturen prinzipiell verschieden [Emerson (1927)]. Die Untersuchung von Ionenwirkungen bei Kultur mit Glukosezusatz soll einer späteren Arbeit vorbehalten bleiben.

Für orientierende Versuche erfolgte die Anzucht an einer »künstlichen Sonne«. Die Anzucht der Hauptversuchsreihen wurde an einer Beleuchtungsanlage vorgenommen, die mehrere Osram-Soffittenlampen von je 100 Watt enthielt. Eine Erwärmung der Kulturen wurde durch zwischengeschaltete gekühlte Küvetten verhindert. Die Soffittenlampen waren möglichst einheitlich ausgesucht, so daß die Intensität der Anzuchtbeleuchtung beim geringstmöglichen Abstand (20 cm) 1200—1400 Lux betrug (der niedere Wert bezieht sich auf die Soffittenenden). Um den Einfluß dieser etwas ungleichmäßigen Belichtung in vergleichenden Kulturen auszuschalten, wurden pro Lampe beiderseits nur 3 Kulturkolben (250 ccm) angebracht.

Die zur Verhinderung des Absitzens und zur Kohlensäureversorgung nötige Durchlüftung der Kulturen erfolgte durch kleine Synchronmotorpumpen. Die Luft, die aus einer Gasflasche eine zusätzliche Kohlensäuremenge von etwa 5—10 Vol.-% er-

hielt, wurde nach Passieren von Sublimat- und Permanganatlösungen durch ein steriles Watterohr getrieben und durchströmte danach die einzelnen Kulturreihen. 48 Kolben wurden von 2—3 Pumpen ausreichend versorgt.

Besondere Beachtung muß beim Kultivieren von Chlorella der Reinheit der Kulturen geschenkt werden. Impft man von einer Agarstammkultur in nicht sterilisierte anorganische Nährlösung ab, so ist die Bakterienentwicklung, wie häufige Ausstrichpräparate zeigten, infolge der überlegenen Teilungsgeschwindigkeit der Chlorellazellen und der relativ sauren Reaktion der CO_2-durchströmten Lösung zunächst sehr gering. In alten Kulturen dagegen können wie bei Verwendung zuckerhaltiger Nährlösungen größere Mengen von Bakterien auftreten. Zwar lassen sich diese, da sie nach dem Zentrifugieren als spezifisch leichter eine feine weiße Schicht über den Chlorellen bilden, durch mehrmaliges Ausschleudern und Abspülen von den Chlorellazellen weitgehend abtrennen. Doch ist solches Material für viele Versuche nicht einwandfrei. Es empfahl sich daher, bei den betreffenden Kulturen die Lösungen vor dem Impfen zu sterilisieren, wodurch eine Bakterienentwicklung nahezu völlig vermieden wurde.

Die Beurteilung des Wachstums der Chlorellazellen in der Kultur kann am einfachsten durch Auszählen mit der Zählkammer nach Thoma geschehen, wie sie zum Auszählen von Blutkörperchen allgemein üblich ist[1]. Um eine weitere Größe zur Wachstumsbeurteilung zu erhalten, stellten wir die Kulturen aller Versuche im Pulfrich-Photometer auf eine Suspensionsdichte ein, die bei einer Schichtdicke von 2,5 mm einer Durchlässigkeit von 25 % des einfallenden Lichtes entsprach. Es geschah dies entweder durch Verdünnung eines bekannten Volumens Kultursuspension mit der betreffenden Nährlösung oder durch Konzentrieren auf der Zentrifuge. (Eine große Becherzentrifuge gestattete das Ausschleudern mehrerer Liter Suspension in kurzer Zeit.) Als Lichtfilter diente uns bei der Messung das Filter S 72 (Schwerpunkt der Durchlässigkeit 720 $\mu\mu$), welches das langwellige Rot, das vom Chlorophyll am

[1]) Fräulein E. Roßmann danke ich für ihre Hilfe bei der Ausführung zahlreicher Zellzählungen.

schwächsten absorbiert wird, durchläßt. Auf diese Weise wurden wir unabhängig vom Chlorophyllgehalt der gemessenen Suspensionen, was für die Dichtebestimmung von Kulturen verschiedener Chlorosegrade natürlich Voraussetzung ist. Sind gleiche Mengen verschieden dichter Kultursuspensionen derart auf dieselbe Lichtdurchlässigkeit eingestellt worden, so können die Volumina dieser »standardisierten« Suspensionen ein Maß für die Substanzproduktion abgeben. Die im folgenden angeführten »Standardvolumina« wurden durch Verdünnen oder Konzentrieren von jeweils 100 ccm Kultursuspension erhalten. Wenn bei längerer Kulturdauer die Suspensionen sehr dicht geworden sind, beginnt sich ein krist. Niederschlag (hauptsächlich Calciumphosphat) abzuscheiden. Kamen solche Kulturen zur Messung noch in Frage, so wurden sie durch Watte filtriert und dadurch die Kristalle so weit von den Zellen getrennt, daß die Lichtabsorption nicht mehr gestört werden konnte.

Die Bestimmung der Assimilationsintensität wurde nach der manometrischen Methode Warburgs vorgenommen, deren Einzelheiten zu schildern sich hier erübrigt. Wir benutzten einen Thermostaten mit elektrischem Rühr- und Schüttelantrieb und als Thermoregulator ein Kontaktthermometer mit dem Meßbereich 10—30° C; beiderseits konnten am Thermostaten je 7 Manometer angebracht werden.

Die von uns benutzten Manometergefäße hatten flache Kastenform. Ihr Inhalt betrug 20—22 ccm; eine schwenkbare Ansatzretorte mit Ventilstopfen war daran so angebracht, daß ein Übertritt von Flüssigkeit selbst bei stärkstem Schütteln unmöglich war. Dasselbe gilt für den zur Aufnahme eines Absorptionsmittels dienenden Einsatzstutzen. Die Eichung der Gefäße erfolgte durch Füllen mit n-Salzsäure und Titration derselben. Als für die Assimilationsmessung vorteilhaftestes Flüssigkeitsvolumen wählten wir in den meisten Fällen 7 ccm. Für Atmungsmessungen stand uns noch eine kleinere Apparatur zur Verfügung, deren Manometergefäße in der Form etwas von der beschriebenen abwichen.

Die vorliegenden Fragestellungen gestatteten im allgemeinen nicht, in der von Warburg angegebenen Weise das Aufnehmen der Chlorellazellen in einseitig zusammengesetzten Lösungen, son-

dern erforderten die Untersuchung von Assimilation bzw. Atmung im Kulturmedium selbst. Daraus ergab sich, zumal in Lösungen optimaler Zusammensetzung, ein durch die Zellvermehrung bedingtes langsames Ansteigen der Assimilationsintensität, falls die Messungen über mehrere Stunden ausgedehnt werden mußten. Um diesen Anstieg von den jeweils zu untersuchenden Einflüssen auf die Assimilationsleistung zu trennen, wurde zumeist vor und nach jedem Versuch eine Zählung der Zellen sowie eine Chlorophyllbestimmung vorgenommen und deren Ergebnisse in der Auswertung berücksichtigt. — Chlorellazellen, die in normaler Nährlösung kultiviert wurden, sind bekanntlich in ihrer Assimilationsfähigkeit gegen viele chemische und physikalische Einflüsse sehr widerstandsfähig, dagegen erweisen sich in dieser Hinsicht Kulturen, die während der Aufzucht unter stärkeren Mangelbedingungen standen, wesentlich empfindlicher. Schon eine Erneuerung der Kulturlösung gelegentlich der manometrischen Messung beantworten sie unter Umständen mit erheblicher Verringerung der Assimilationsgröße, häufig verbunden mit einem Ausflocken aus der Lösung. Es wurde daher stets vermieden, die Zellen aus ihren Kulturmedien zu entfernen. Mußten sie zur Wachstumsbeurteilung oder Assimilationsmessung auf eine bestimmte Suspensionsdichte konzentriert werden, so wurden sie nach dem Zentrifugieren wieder in ihrer Anzuchtlösung aufgenommen. Die zu den Assimilationsmessungen verwendeten Suspensionen wurden durch Einstellen auf gleiche Lichtdurchlässigkeiten vergleichbar gemacht und in diesen Versuchssuspensionen Zellzählungen vorgenommen. Sollten die Absolutwerte der Assimilation aus Kulturen verschiedenen Chlorophyllgehalts verglichen werden, so mußte die Bedingung der Blackman-Reaktion — Unabhängigkeit der Photosynthese von der Lichtintensität — erfüllt sein. Unsere Standardsuspensionen (s. o.) entsprachen dieser Forderung, wenn im Assimilationsversuch die Lichtquelle den Manometergefäßen auf 2 cm genähert war (Lichtintensität 12 000 Lux).

Die Belichtung der Manometergefäße erfolgte durch zwei im Thermostaten versenkbare Lampen mit je 2 verspiegelten Soffitten zu 100 Watt und Kühlmantel (Abb. 1).

Sie waren unter den beiden Manometerreihen verschiebbar

angebracht und konnten den Gefäßen bis auf 1 cm genähert werden. Im Bereich der Blackman-Reaktion ergaben sich die Intensitätsunterschiede zwischen den die einzelnen Manometer beleuchtenden Lampenteilstücken keinen Einfluß auf die Assimilationsintensität. Bei schwächerer Belichtung machten sich die geringeren Intensitäten an den Lampenenden bemerkbar. Wenn daher Manometer in diesen Abschnitten benutzt werden mußten, wurde durch Vertauschen mit vollbelichteten die Größe der Abweichung festgestellt. Über dem zwischen den beiden

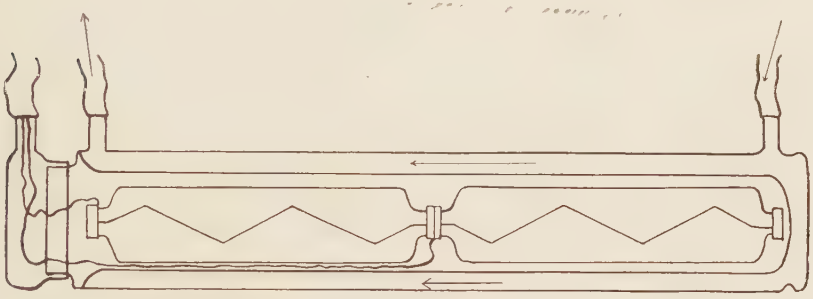

Abb. 1. Gekühlte Lampe zur Beleuchtung der Manometergefäße.

Soffitten befindlichen toten Raum wurde stets das Leergefäß (Thermobarometer) angeordnet. Die Kühlung der Lampe erfolgte in der Weise, daß das Kühlwasser den Mantel gerade so rasch durchströmte, daß es die Badtemperatur etwas unter den am Kontaktthermometer eingestellten Wert herabdrückte; so konnte die Tauchsiederfeinheizung dauernd arbeiten und eine sehr genaue Konstanz der Temperatur bewirken. Selbst bei stärkster Näherung der Lampe war die Kühlung so gut, daß in den Manometern keine Drucksteigerung durch Erwärmung stattfand. — Sollten geringe Lichtintensitäten aus dem Bereich des Kompensationspunktes (photochemische Reaktion) angewandt werden, so erfolgte die Beleuchtung von außen her mit einfachen Soffittenlampen durch ein im Thermostaten angebrachtes Fenster über einen unter den Manometer eingehängten Spiegel. Das Fenster wurde zu diesem Zweck mit Pergamentpapier überzogen.

Die Kohlensäureversorgung der Manometergefäße erfolgte vor dem Versuch durch Einleiten eines Gemisches von Luft

mit 8 Vol.-% CO_2 oder mit gleichem Erfolg durch gleichzeitiges Einleiten von Preßluft und etwas Kohlensäure. Die eingeleitete Kohlensäuremenge reichte aus, um an normal gezüchteten Zellen die Assimilation viele Stunden lang mit gleichmäßiger Geschwindigkeit in Gang zu halten.

Die Berechnung der Assimilationswerte erfolgte in der von Warburg angegebenen Weise, soweit nicht eine Angabe der Druckwerte in mm genügte, nach der Gleichung

$$x_{O_2}(mm^3) = h \cdot \left[\frac{k_{CO_2} \cdot k_{O_2}}{k_{CO_2} + \gamma \cdot k_{O_2}}\right].$$

Dabei bedeutet h die Druckdifferenz in mm, k die Gefäßkonstante für die beiden Gase und γ den Gaswechselquotienten. Der Gaswechselkoeffizient $\gamma = \frac{O_2}{CO_2}$ wurde stets $= -1$ gesetzt; (der Wert des Quotienten ist negativ, wenn eines der beiden Gase — im Fall der Assimilationsbestimmung CO_2 — verschwindet).

Auch Atmungsbestimmungen mußten natürlich ausgeführt werden, besonders dann, wenn bei geringer Lichtintensität die Atmungsgröße gegenüber den Assimilationsausschlägen nicht zu vernachlässigen war. Die Messungen wurden während mehrerer Stunden unmittelbar vor oder nach der Assimilationsmessung vorgenommen. Die Verwendung der Kulturlösung selbst als Medium für die manometrische Messung schließt die Gefahr in sich, daß infolge der an älteren Kulturen zu beobachtenden Erhöhung des p_H-Wertes — bei lang dauernden Kulturen stieg trotz Einleitens von Luft-CO_2-Gemisch der p_H-Wert vom Anfangsbetrag 4,2 bis über 6 an — eine Retention von CO_2 bei den Atmungsbestimmungen stattfindet. In solchen Fällen wurde daher vor der Atmungsmessung das Luft-CO_2-Gemisch eingeleitet, wodurch die Retention vorweggenommen und die Spaltung von etwa vorhandenem Bikarbonat hintangehalten wurde. Zur Kontrolle wurde vor und nach der Atmungsbestimmung durch Einkippen von Zitronensäure der Gehalt an Bikarbonat ermittelt. Es zeigte sich, daß Bikarbonat zumeist nur in geringer Menge vorhanden war und diese während eines Versuchs nicht oder nur ganz unwesentlich verändert wurde.

Chlorophyllbestimmung. Chlorella wurde in feuchtem Zustand im Zentrifugengläschen mit Methylalkohol in der Kälte extrahiert. Der durch mehrmaliges Aufnehmen und Zentrifugieren erhaltene Extrakt kam zur Bestimmung in kleine Meßkölbchen (10 ccm). Gelegentlich bleibt zunächst ein Teil des Chlorophylls im Rückstand; eine Zwischenbehandlung mit 1—2 Tropfen Wasser macht auch diesen Rest leicht extrahierbar. Zum sofort anschließenden Kolorimetrieren im Pulfrich-Photometer bedienten wir uns des von der Firma Zeiss angefertigten Spezialfilters S 66,6/3,5, dessen beidseitig begrenzte Durchlässigkeit mit der Rotbande des Chlorophylls zusammenfällt. Die damit bestimmte Extinktion des Rohextrakts in Aceton oder Methylalkohol gibt ohne Abtrennung der Carotinoide einwandfreie Chlorophyllwerte. Die Eichkurve wurde mit einem Chlorophyllreinpräparat (a + b) aus Aesculus hergestellt. Sie zeigt im Bereich hoher Konzentrationen eine leichte Depression. Diese Unstimmigkeit mit dem Lambert-Beerschen Gesetz ist vermutlich in erster Linie auf die Fluoreszenz der Lösung zurückzuführen.

Vorversuche.

(»Innere Faktoren« des verwendeten Materials.)

Zur Aufklärung des Einflusses physiologischer Stimmungen unserer Versuchspflanzen unter konstanten Außenbedingungen und deren Auswirkung im zeitlichen Verlauf der Assimilationswerte eines Versuchs gingen wir von den Gedankengängen Harders (l. c.) aus, der zeigte, daß die Form des zeitlichen Verlaufs der Assimilationskurven seines Materials abhängig war von der Größe der Differenz zwischen der Anzuchtbeleuchtung und der Versuchslichtstärke. Wir kultivierten Fontinalis im losen Verband in Regenwasser sowohl im hellen Licht des Gewächshauses als auch an einer schattigen Stelle desselben Ortes, an dem die Lichtintensität auf etwa $^1/_{50}$ verringert war. Das Material beider Anzuchten wurde nach 5 bis 6 Wochen in der Assimilationsbestimmung bei hoher und niedriger Lichtintensität unterworfen. Der Verlauf von Assimilations-Zeitkurven, gewonnen an Starklichtmaterial, ist in Abb. 2 dargestellt.

Der Kurvenverlauf zeigt demnach im Prinzip ein ähnliches Verhalten wie von Harder beschrieben wurde. Im allgemeinen war bei unsern Versuchen allerdings die Amplitude der durch »innere Faktoren« bedingten zeitlichen Leistungsänderungen geringer. Wir erhielten meist, selbst bei starken Differenzen zwischen Anzucht- und Versuchsbeleuchtung, Kurven vom Typus der Abb. 2 mit kurzem Anstieg und langsamem Ab-

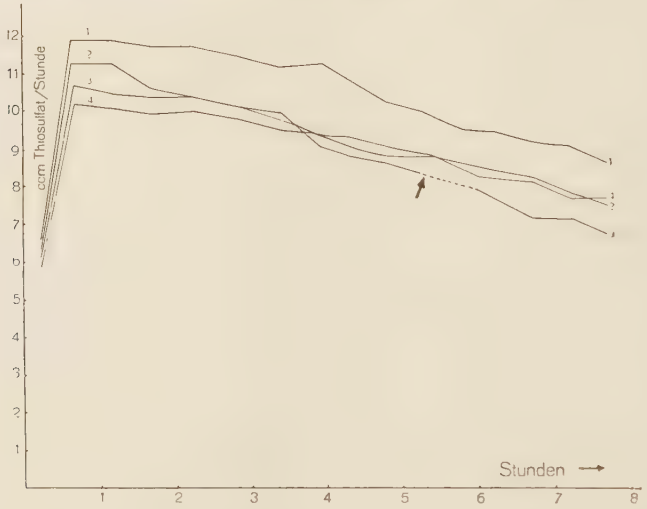

Abb. 2. Zeitlicher Verlauf der Assimilation bei Fontinalis. Kurven 1—4 Parallelbestimmungen. Kurve 3 durch manometrische Messung erhalten. Zu dem durch den Pfeil gekennzeichneten Zeitpunkt wurde die Versuchslösung im Manometer erneuert.

sinken der Assimilationsleistung. Ausgesprochene Sattelkurven oder Kurven mit starker Leistungsdepression wurden (auch an Schattenmaterial) selten beobachtet. In solchen Fällen war dann freilich die Leistungssenkung mit einer mehr oder weniger starken Allgemeinschädigung verbunden, wie Messungen am darauffolgenden Tage zeigten. Daß die von Harder beobachteten starken Depressionen in ähnlicher Weise durch einen schädigenden äußeren Einfluß bedingt sind, soll damit nicht gesagt sein. Für das bei unseren Kurven zumeist beobachtete langsame Absinken der Assimilationsgröße gelten im übrigen die von Harder in seiner ersten Arbeit gemachten Angaben über die Wirkung von Dunkelpausen. Diese wirkten erst nach

etwa 8—10 Stunden, d. h. erst nach dieser Zeit konnte eine Verlangsamung des zeitlichen Abfalls durch Einschalten von Dunkelperioden erzielt werden.

Orientierende Versuche wurden auch angestellt über die Temperaturabhängigkeit der Assimilationsleistung von Fontinalis. Es ergab sich dabei — bei einiger Streuung der Resultate — eine Unabhängigkeit im Bereich niedriger Beleuchtungsstärke, während bei hohen Intensitäten Atmung und Assimilation mit der Temperatur stark zunahmen. Hierbei muß betont werden, daß unsere Fontinalis-Sprosse entsprechend ihren Aufzuchtbedingungen als »Wärmepflanzen« im Sinne Harders angesprochen werden mußten. Bei Kälteindividuen sind nach Harder »innere Faktoren« der Bestimmung der Temperaturabhängigkeit der Assimilation äußerst hinderlich. Für unsere Sprosse jedenfalls konnten bei den zur Anwendung kommenden hohen Lichtstärken die Bedingungen der Blackmanschen Reaktion weitgehend als gegeben angesehen werden.

Um ein Bild von der Wirkung des Zeitfaktors auch auf Assimilations-Lichtkurven zu erhalten, welche mit demselben Sproßmaterial in unmittelbar hintereinander ausgeführten Bestimmungen gewonnen wurden, schlossen wir an Messungen bei ansteigenden Lichtintensitäten (1200, 5000 und 12000 Lux) mit demselben Material sogleich eine Versuchsreihe mit absteigender Folge der Intensitäten an (12000, 5000 und 1200 Lux). Die Meßzeiten betrugen bei 1200 Lux 2 Stunden, bei 5000 und 12000 Lux je 1 Stunde; die einzelnen Messungen folgten dabei möglichst unmittelbar aufeinander (Zwischenzeit etwa 10 Minuten). Abb. 3 zeigt das Ergebnis im Vergleich mit ebenso behandelten Chlorella-Suspensionen.

Während bei Fontinalis die Assimilationswerte der absteigenden Belichtungsfolge unter der Wirkung des Zeitfaktors erheblich unter die entsprechenden Beträge der aufsteigenden Reihe zu liegen kommen, was an der zweiten Messung bei 12000 Lux besonders deutlich zu erkennen ist, zeigt Chlorella unberührt von Zeitfaktoren in beiden Fällen nahezu die gleiche Assimilationsleistung. Diese Tatsache gibt ein deutliches Bild der typischen Unterschiede in der Reaktionsweise der beiden Assimilationsapparate, deren unterschiedliches Verhalten be-

sonders gegenüber äußeren Faktoren ohne weiteres aus zahlreichen Arbeiten hervorgeht (Harder, Warburg, Wehner).

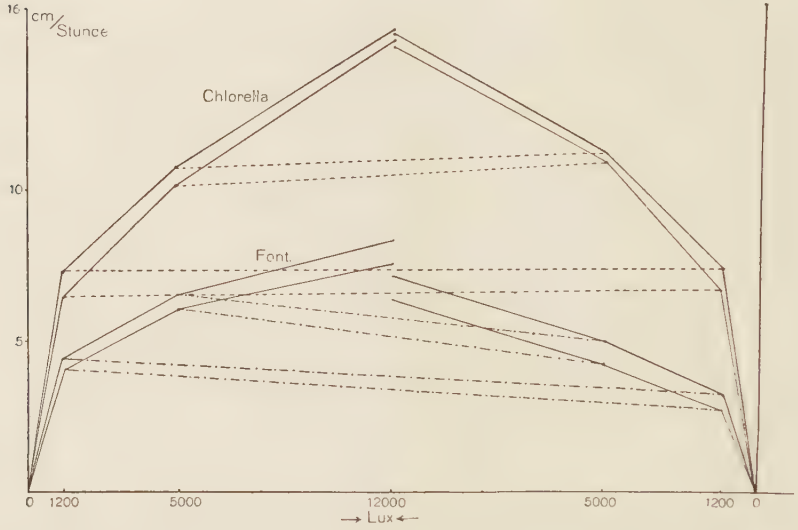

Abb. 3. Wirkung des Zeitfaktors auf die Licht-Assimilationskurven von Fontinalis (untere Kurven) und Chlorella (oben). Erklärung siehe Text! Chlorella kam in diesem Fall in Karbonat-Bikarbonat-Gemisch und in dichterer Suspension zum Versuch als der sonst üblichen Standard-Dichte entspricht.

Wirkungen von Ionen auf den ausdifferenzierten Assimilationsapparat (Fontinalis).

Zur Untersuchung der Ionenwirkungen geringerer Konzentrationsbereiche auf den Assimilationsapparat ausdifferenzierter Zellen kommt als Versuchsobjekt die sonst so dankbare Chlorella nicht in Frage, da sie, wie schon Warburg (1928) betont, gerade gegenüber Salzlösungen, auch hoher Konzentration, eine bemerkenswerte Stabilität zeigt. Wir untersuchten hier daher lediglich Fontinalis-Material. Auch bei ihm besteht eine verhältnismäßig große Stabilität gegenüber den in diesem Zusammenhang zunächst interessierenden Kalium- und Natriumsalzen, solange wir Sprosse betrachteten, welche in Leitungswasser zur Aufzucht gelangt waren und die verwendeten Salze im Versuch in diesem Leitungswasser gelöst zur Einwirkung kamen.

Das im Regenwasser aufgezogene Fontinalis-Material, das wir daher im weiteren verwendeten, wurde der Einwirkung

von KCl zunächst im Bereich niederer Intensitäten ausgesetzt. Dabei zeigte sich jedoch keine Änderung der Assimilationsgröße unter der Wirkung der Kaligabe. Abb. 4 gibt dagegen einen Versuch wieder, bei dem im Bereich hoher Lichtstärke (12000 Lux) Fontinalis nach dem ersten Ansteigen der Assimilationsleistung mit verschiedenen Konzentrationen von Kalium- und Natriumchlorid versehen wurde.

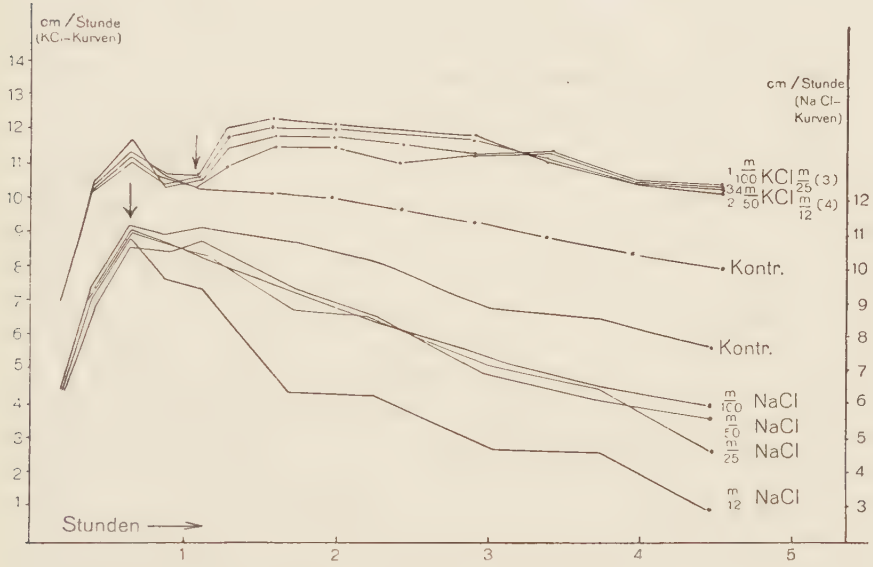

Abb. 4. Einwirkung von Kaliumchlorid verschiedener Konzentrationsstufen auf die Assimilation von Fontinalis. Der Vergleich mit entsprechenden NaCl-Konzentrationen ist unter die Kaliumkurven projiziert (Ordinatenwerte rechts).

Während danach unter den gegebenen Versuchsbedingungen (Starklichtmaterial, hohe Versuchslichtintensität) durch Kaliumgaben ein konzentrationsunabhängiger Assimilationsanstieg hervorgerufen wird, ist eine Natriumgabe gleicher Konzentration von einem mehr oder weniger konzentrationsabhängigen Leistungsabfall gegenüber der Kontrolle begleitet. Diese Erscheinung macht es wahrscheinlich, daß die Assimilation im Bereich der Blackmanschen Reaktion durch Kaligaben eine wenigstens relative Förderung erfährt, während sich der Assimilationsapparat gegenüber entsprechenden Natriumzusätzen als ziemlich empfindlich erweist. In dieser Ansicht werden wir

durch zahlreiche ähnlich angestellte Versuche bestärkt, auf deren Wiedergabe wir im einzelnen verzichten. Wir stellten z. B. fest, daß diese unterschiedliche Wirkung von Kalium und Natrium in dem ganzen für die Assimilation von Fontinalis optimalen p_H-Bereich (3,5—8,4) gleichermaßen zu beobachten ist. Wir führen hier nur noch einen Fall an, der die Verschiedenheit beider Ionen im Gebiet alkalischer Reaktion erkennen läßt.

Tabelle 1.

Assimilation von Fontinalis in $\frac{n}{100}$ $NaHCO_3$ und $KHCO_3$.

Lichtintensität 12 000 Lux. Werte in mm^3 O_2. Versuchsdauer 2 Tage.

	$NaHCO_3 + CO_2$				$KHCO_3 + CO_2$			
	p_H = 8,07		p_H = 9,10		p_H = 8,10		p_H = 9,05	
1. Tag	15,5	14,7	5,0	5,8	17,2	16,7	5,6	5,8
	15,0	13,9	5,0	5,9	18,4	19,0	6,4	6,7
2. Tag	5,2	3,1	0	0	12,4	14,3	2,2	0,9

In Tab. 1 sind die Assimilationswerte eingetragen, die sich auf den Vergleich von Natrium und Kaliumbikarbonat-Lösungen beziehen, welche durch Zugabe geringer Kohlensäuremengen auf verschiedene, aber untereinander annähernd gleiche p_H-Werte eingestellt worden waren. Am ersten Tage wurden zwei aufeinanderfolgende Assimilationsbestimmungen ausgeführt, am zweiten Versuchstage fand nur eine Messung statt. Auch diese Werte lassen bei gleichen p_H-Stufen eine deutliche Bevorzugung des Kaliums gegenüber dem Natrium erkennen. Auch beim p_H-Wert von 9, der seinen bereits ungünstigen Einfluß durch die starke Leistungsdepression besonders am 2. Versuchstage zu erkennen gibt, ist das Kalium noch in der Lage, seine relativ günstige Wirkung zu entfalten.

Nicht ohne Interesse ist natürlich die Frage nach dem Verhalten anderer Kaliumsalze. Wir geben in Abb. 5 einen Versuch wieder, bei dem außer Kaliumchlorid auch äquinormale Kaliumnitrat- und Kaliumsulfatlösungen angewendet wurden.

Wir beobachteten dabei am ersten Versuchstage eine Verlangsamung des Assimilationsabfalles durch alle drei Kalisalze. Freilich macht sich schon hier eine etwas geringere Wirkung

des Nitrats und Sulfats bemerkbar, die im Verlauf der nächtlichen Verdunklung sich bis zur Hemmung gegenüber der Kontrolle steigerte. Der Kontrollversuch selbst zeigte am folgenden Tage sehr niedrige Werte, die von denen des Kaliumchlorid-Versuchs ganz erheblich übertroffen werden.

Abb. 5. Einwirkung verschiedener Kalisalze gleicher Konzentration (n/25) auf die Assimilation von Fontinalis. Hohe Lichtintensität. Fortsetzung des Versuchs am folgenden Tage. Dazwischen Dunkelpause.

Die hemmende Wirkung des Nitrations erscheint auffällig, zumal Wehner (1928) angibt, daß er durch Behandlung mit $NaNO_3$ — HNO_3 (n/100 bzw. n/10 000) eine Leistungssteigerung der Assimilation von Fontinalis-Sprossen erzielen konnte. Die Annahme Wehners, daß dies auf eine Ausscheidung von Extrasauerstoff infolge der Nitratreduktion zurückzuführen sei, ist nicht stichhaltig, da in dem betreffenden Versuch der für den Nachweis der Bildung von Extrasauerstoff notwendige Kohlensäureentzug nicht stattfand. Vielmehr handelt es sich wahrscheinlich um eine kurzdauernde Stimulationswirkung, zumal auf eine Vorbehandlung des Materials kein besonderer Wert gelegt worden war.

Es ist selbstverständlich unzulässig, über die Wirkungen von Alkaliionen erklärende Aussagen zu machen, bevor nicht Versuche über die Wirkung ihrer Antagonisten, also besonders des Kalziumions, vorliegen. Wir bemühten uns aus diesem Grunde, auch die Wirkung des Kalziums auf den Assimilationsapparat der Fontinaliszellen in unsere Betrachtungen einzubeziehen. Die Sprosse, welche von uns zu der Feststellung der assimilationserhöhenden Wirkung des Kalis herangezogen wurden, ergaben

im orientierenden Versuch bei Kalziumzufuhr im Bereich hoher Lichtstärke eine konzentrationsabhängige Leistungsstimulierung am zweiten Versuchstage. Im übrigen fanden wir keinerlei Einfluß des Kalziums auf dieses Material, welcher uns irgendwelche Schlüsse zu ziehen gestattete.

Durch mehrtägige Behandlung mit dest. Wasser änderte sich, soviel wir aus wenigen Versuchen entnehmen können, das Verhalten unseres Materials. Wir beobachteten dann eine Schädigung durch Kaligaben von n/50 KCl an. In einzelnen Versuchen war freilich das Eintreten dieser Schädigung zeitlich verschieden. Auch Kalzium wirkte, für sich allein verabfolgt, nach Behandlung mit dest. Wasser hemmend auf den Assimilationsapparat ein. Dagegen zeigte eine äquinormale Kombination beider Salze eine deutliche Anregung des Assimilationsapparates. Tab. 2 und 3 zeigen diese Verhältnisse (titrimetrische Versuche).

Im Gegensatz zu der hier beobachteten Hemmung durch Kaligaben kann die nach Vorbehandlung mit dest. Wasser schon durch n/100 NaCl bewirkte starke Leistungssenkung durch äquinormale Ca-Zufuhr nicht aufgehoben werden. Auch die doppelte Ca-Menge vermag diese Hemmung nicht aufzuhalten (Tab. 4).

Die Annahme, daß die durch das Zusammenwirken von Antagonisten hervorgerufene günstigste Ionenbilanz auch für den Assimilationsapparat vornehmlich durch das Ionenpaar Ca-K aufgestellt wird, erscheint daher nicht unberechtigt, wie ja im allgemeinen der Antagonismus zwischen K und Ca ausgesprochener ist als der zwischen Ca und Na.

Die Beobachtung, daß in kurzdauernden Versuchen und im Bereich der Blackmanschen Reaktion das Kaliumion eine mindestens relative Steigerung der Assimilationsleistung auszuführen vermag, führt zu der Frage, wieweit die Pflanze in der Lage ist, diese Reaktion dauernd, d. h. unter Erhöhung ihrer Stoffausbeute, in einem für sie vorteilhaften Sinne zu verwerten. In diesem Falle wären bei längerer Kultur in Kalimangel- bzw. -überschußlösungen Wachstumsunterschiede zu erwarten, die sich in Verschiedenheiten des Assimilationsverhaltens äußern müßten. Trotz einer großen Anzahl von

Tabelle 2.

Assimilation von Fontinalis bei Kalizusatz nach Vorbehandlung mit dest. Wasser. Hohe Lichtintensität. Werte auf gleiche Anfangsbeträge bezogen (ccm $\frac{n}{100}$ Thiosulfat pro Stunde).

	Kontrolle dest. Wasser	$\frac{n}{100}$ KCl	$\frac{n}{50}$ KCl	$\frac{n}{20}$ KCl
1. Tag	32,0	32,0	32,0	32,0
	36,6	38,4	36,9	36,3
	33,4	33,1	35,1	35,5
2. Tag	20,1	24,0	24,6	26,0
	—	K zugegeben	K zugegeben	K zugegeben
	21,6	26,3	27,6	27,0
3. Tag	18,6	22,7	6,0	0,2
4. Tag	13,8	14,8	4,1	0

Tabelle 3.

Assimilation von Fontinalis. Vergleich der K-, Ca- und K + Ca-Wirkung. Vorbehandlung mit dest. Wasser. Hohe Lichtintensität. Assimilationsleistung auf gleiche Anfangswerte bezogen (ccm $\frac{n}{100}$ Thiosulfat pro Stunde).

	Kontrolle dest. Wasser	$\frac{n}{50}$ $CaCl_2$	$\frac{n}{50}$ KCl	$\frac{n}{50}$ $CaCl_2$ + KCl
1. Tag	28,8	28,8	28,8	28,8
	26,6	29,0	28,2	27,5
	25,0	27,3	26,0	27,2
	—	Ca zugegeben	K zugegeben	Ca + K zugegeben
	30,0	4,2	19,6	36,0
2. Tag	23,0	1,1	12,6	38,6

Tabelle 4.

Assimilation von Fontinalis. Vergleich der Na- und Na + Ca-Wirkung. Vorbehandlung mit dest. Wasser. Hohe Lichtintensität. Assimilationsleistung auf gleiche Anfangswerte bezogen (ccm $\frac{n}{100}$ Thiosulfat pro Stunde).

	Kontrolle dest. Wasser	$\frac{n}{100}$ NaCl	$\frac{n}{100}$ NaCl + $\frac{n}{100}$ $CaCl_2$	$\frac{n}{100}$ NaCl + $\frac{n}{50}$ $CaCl_2$
1. Tag	28,0	28,0	28,0	28,0
	—	Na zugegeben	Na + Ca zugegeben	Na + Ca zugegeben
	29,2	35,5	32,0	33,4
2. Tag	22,0	1,2	0,2	1,1

Anzuchtversuchen, die unter verschiedensten Kulturbedingungen und unter besonderer Kontrolle der Lichtverhältnisse ausgeführt wurden, gelang es niemals, in eindeutiger Weise eine solche Daueranregung des Assimilationsapparates aufzufinden. Wir führen dies auf die Schwierigkeit der Kultur von Fontinalis in Nährlösungen im allgemeinen und in Mangellösungen im besonderen zurück. Immerhin erscheint es bemerkenswert, daß in jungen und ausgewachsenen Sprossen trotz einer erheblichen Abnahme des Kaliums, bezogen auf das Trockengewicht, durch längere Kultur in kalifreier Nährlösung keine klaren Unterschiede in Assimilations- und Atmungsverhalten gegenüber Kalianzuchten zutage traten. Tab. 5 gibt die Analysenwerte von Sproßspitzen und ausgewachsenen Teilen nach vergleichender achtwöchiger Kalimangel- bzw. -überschußkultur [Kali-Mikroanalyse nach Alten, Weiland und Kurmies (1933)].

Tabelle 5.

Kaligehalt von Sproßspitzen und älteren Sproßteilen von Fontinalis bei Anzucht in kalihaltigem und kalifreiem Medium (% des Trockengewichts).

	Anzucht in Knopscher Lösung 1 : 5 K durch Na ersetzt			Anzucht in Knopscher Lösung 1 : 5 zusätzlich $\frac{n}{100}$ KCl gegeben		
Sproß-Spitzen . . .	0,85	0,83	0,83	1,22	1,26	1,10
Ältere Sproßteile . .	0,45	0,43	0,45	0,52	0,48	0,49

Die beim Arbeiten mit Fontinalis in Dauerkultur auftretenden Schwierigkeiten führten zwangsläufig dazu, die Fragestellung auf die der Kultur unter den verschiedensten Bedingungen leicht zugängliche Chlorella auszudehnen. Wir behandeln daher im folgenden die an diesem Objekt untersuchten Teilprobleme.

Ionenwirkungen auf Mangelzellen von Chlorella.

1. Kalimangel.

Um den Bereich des Kalimangels und seine Wirkung auf das äußere Aussehen und die physiologische Leistungsfähigkeit der Chlorellazellen kennenzulernen, stellten wir durch völligen oder teilweisen Ersatz des KNO_3 in unserer Normal«-

lösung durch $NaNO_3$ Kulturen mit ansteigendem Gehalt von 0—2.10^{-4} mol K her. Drei Tage nach dem Impfen zeigte eine gleichmäßig grüne Trübung in allen Kulturen den Beginn kräftigen Wachstums an; bald jedoch trat in den kaliärmsten Kulturen Chlorose auf, gefolgt von einer Verlangsamung der Zellvermehrung. Die einzelnen Zellen wurden dabei größer und bei stärkstem Kalimangel begann der Chloroplast schließlich unter Verringerung seines Volumens in unregelmäßige Teile zu zerfallen. Aus Tab. 6 ersieht man die Wachstumsrate der verschiedenen Kulturen 11 Tage nach der Beimpfung aus der Größe der Standardvolumina (Volumen von 100 ccm Kultursuspension nach dem Einstellen auf gleiche Lichtdurchlässigkeit). Die Wachstumshemmung ist in diesem Fall bei der Kaliumkonzentration von $2{,}4 \cdot 10^{-5}$ mol angelangt. Die Stärke der Chlorose — gemessen am Chlorophyllgehalt gleicher Mengen Standardsuspension — nimmt zu mit steigendem Kalimangel. Die Assimilationsleistung der verschiedenen Kalistufen zeigt eine klare Abhängigkeit vom Kaligehalt der Lösung (Tab. 6).

Tabelle 6.

Assimilation und Atmung von Chlorella in Abhängigkeit vom K-Gehalt der Anzuchtlösung (mm^3 O_2 pro Stunde).

Alter der Kultur 11 Tage. Chlorella in Kulturlösung (7 ccm Standardsuspension). Gasraum: Luft-CO_2-Gemisch. 20° C. Lichtintensität 12 000 Lux.

mol K bei Beginn der Kultur	g^{-6} Chlorophyll in 10 ccm Standardsusp.	Standard-Volumen ccm	Assimilation mm^3 O_2 pro Std.		Atmung mm^3 CO_2 pro Std.
0	74	4	(— 4,5)	(— 6,0)	3,8
$8 \cdot 10^{-6}$	105	48,5	3,9	1,3	9,3
$1{,}6 \cdot 10^{-5}$	109	87	82,5	84,5	10,5
$2{,}4 \cdot 10^{-5}$	115	99,5	100,0	98,0	8,3
$4 \cdot 10^{-5}$	146	125	133	131	7,1
$2 \cdot 10^{-4}$	160	123	151	139	5,1

Die eingeklammerten negativen Werte bei völligem Kalimangel besagen, daß die Druckabnahme im Manometer bei Belichtung größer war als im Dunkeln, also offenbar ein zusätzlicher Sauerstoffverbrauch durch Photooxydation stattfand. Während die Assimilation mit steigenden Kalimengen zunimmt, zeigt die Atmung ein umgekehrtes Verhalten; sie hat ihr Maximum bei niedrigeren Kalistufen.

Es war nun von Interesse, zu wissen, in welcher Weise die Kalimangelzellen reagieren, wenn ihrer Nährlösung durch Kaligabe das fehlende Ion zugeführt wurde. Um dies zu untersuchen, gaben wir in die schwenkbaren Ansatzretorten der Manometergefäße verschiedene Kalisalzlösungen und ließen eine chlorotische Kaliummangelsuspension zunächst einige Zeit ohne Kalium assimilieren; danach wurde durch Drehen der Ansätze das Kaliumsalz in die Suspensionen übergeführt und die Assimilationsmessung sogleich fortgesetzt. Als Zusatz wählten wir KNO_3- und KCl-Lösungen solcher Konzentration, daß nach Einkippen die Suspensionen $1 \cdot 10^{-2}$ mol K enthielten, d. i. eine Menge, die dem Kaligehalt unserer »Normal«lösung entspricht. Daneben wurden Leerkontrollen mit dest. Wasser und NaCl-Lösung ausgeführt; letztere sollten einen etwaigen osmotischen Effekt der Salzzugabe anzeigen. Das Ergebnis gibt Tab. 7 wieder.

Tabelle 7.

Einwirkung von Kaliumsalzen auf die Assimilation von Kalimangelzellen.

Die Kulturlösung enthielt zu Beginn der Kultur $1{,}5 \cdot 10^{-5}$ mol K. Alter der Kultur 14 Tage. 7 ccm Standardsuspension pro Gefäß. Gasraum: Luft-CO_2-Gemisch. Lichtintensität 12 000 Lux.

I: erhält 0,2 ccm 3,5% KNO_3-Lösung (= $1 \cdot 10^{-2}$ mol)
II: „ 0,2 „ 3,5% „ - „ (= $1 \cdot 10^{-2}$ „)
III: „ 0,2 „ 2,6% KCl- „ (= $1 \cdot 10^{-2}$ „)
IV: „ 0,2 „ 2,6% „ - „ (= $1 \cdot 10^{-2}$ „)
V: „ 0,2 „ 2,0% NaCl - „ (= $1 \cdot 10^{-2}$ „)
VI: Leerkontrolle, erhält 0,2 ccm dest. Wasser
VII: Leerkontrolle, erhält 0,2 ccm dest. Wasser

Nr.	Assimilationsüberschuß in mm^3 O_2 pro Std.				g^{-6} Chlorophyll in 10 ccm Standardsuspension	
	vor Salzzusatz	nach Salzzusatz				
		nach 30 Min.	nach 30—120 Min.	nach 12 Std.	vor Versuch	nach Versuch
I	38,0	84,0	90,0	107	69	71
II	44,0	71,0	74,0	102	69	71
III	46,5	61,0	75,5	113	69	71
IV	47,5	58,0	75,5	106	69	69
V	41,0	26,5	25,0	27,5	69	72
VI	40,0	27,0	27,3	25,2	69	71
VII	48,0	28,5	27,0	29,0	69	70

Man erkennt, daß bereits 30 Minuten nach dem Kalizusatz eine Steigerung der Assimilationsleistung stattfand und zwar

war diese etwas stärker in den Manometern, die KNO_3 erhalten hatten. Zwei Stunden nach dem Einkippen war aber auch in den mit KCl versehenen Gefäßen ein etwa gleich großer Anstieg erfolgt, während Leer- und NaCl-Kontrolle ein Absinken der Assimilationsleistung zeigten. Eine solche Senkung beobachteten wir häufig bei Untersuchung des zeitlichen Verlaufs der Assimilation von Mangelzellen im Bereich starker Lichtintensitäten, ein Beispiel dafür, daß diese Mangelzellen nicht ohne weiteres mit normalen Zellen verglichen werden dürfen, die ja über lange Zeit hinweg eine mehr oder weniger konstante Assimilation zeigen. Schon aus diesem Grunde sind, wie bei Fontinalis, auch hier Leerkontrollen unentbehrlich. Tab. 7 zeigt uns ferner, daß sich 12 Stunden nach Kalizusatz der Unterschied zwischen Kontroll- und Versuchsgefäßen noch vergrößert hatte (in der Zwischenzeit waren die Manometer verdunkelt worden) und im Endeffekt Kaliumnitrat und Kaliumchlorid die gleiche Wirkung hervorgebracht hatten. Um zu entscheiden, ob die Assimilationserhöhung der chlorotischen Kultur bei Kalizusatz mit einer Vermehrung des Chlorophyllgehalts in Zusammenhang gebracht werden kann, extrahierten wir nach dem Versuch den Inhalt jedes Gefäßes mit Methylalkohol. Man erkennt, daß zwischen Versuchs- und Kontrollsuspensionen kein wesentlicher Unterschied im Chlorophyllgehalt besteht und die leichte Steigerung der Chlorophyllmenge gegenüber dem Gehalt der Standardsuspension vor Beginn des Versuchs fast alle Manometerinhalte gleichmäßig betrifft. In den mit Kali versehenen Suspensionen war also trotz gleicher Chlorophyllmenge die Assimilationsleistung größer als in den Kontrollen.

Da Emerson (1935) feststellte, daß bei starker Belichtung eine Erhöhung der Zellzahl und Assimilationsleistung ohne Erhöhung des Chlorophyllgehalts stattfinden kann, war es auch notwendig, zu untersuchen, ob die von uns beobachtete Assimilationssteigerung bei Kaligabe nicht auch mit einer Zellvermehrung konform verläuft. Es mußten daher neben den Chlorophyllbestimmungen auch Zählungen der Zellen vor und nach dem Assimilationsversuch ausgeführt werden. Bei Tab. 8 handelt es sich um einen solchen Versuch, bei dem Kulturen verschieden starken Kalimangels mit KNO_3 versehen wurden und bereits

eine halbe Stunde danach nach Messung der Assimilationssteigerung Chlorophyll und Zellzahl der Suspensionen ermittelt wurde. Die momentane Steigerung der Assimilationsgröße durch Kalizusatz ist im Bereich von $1 \cdot 10^{-5}$ bis $8 \cdot 10^{-5}$ mol sehr beträchtlich, die Veränderungen von Zellzahl und Chlorophyllgehalt dagegen liegen fast alle innerhalb der Fehlergrenze der Methoden. Man sieht ferner, daß eine Anregung der Assimilation nicht mehr möglich ist, wenn infolge stärksten Kalimangels schon vor der Kaligabe die Assimilationsgröße auf den Nullpunkt herabgedrückt war; es ist lediglich festzustellen, daß im Verlaufe der längeren Belichtung eine Zunahme

Tabelle 8.

Steigerung der Assimilationsleistung von Kalimangelzellen bei Zusatz von Kaliumnitrat in Beziehung zu Chlorophyll- und Zellvermehrung.

Im Ansatz der Versuchsgefäße 0,2 ccm 3,5% KNO_3-Lösung.

[Der 2. Versuch jeder Konzentrationsstufe dient als Kontrolle (ohne K-Zusatz).]

mol K zu Beginn der Kultur	Assimilation mm^3 O_2 pro Std.		% Diff.[1])	g^{-6} Chlorophyll		Zellzahl in $4 \cdot 10^{-3}$ cmm Suspension	
	vor Kalizusatz	nach Kalizusatz (30′)		vor Versuch	nach Versuch	vor Versuch	nach Versuch
0	(— 4,4) (— 6,3)	(— 18) (— 14)	—	75	74 75	102	101 104
$1 \cdot 10^{-5}$	42,6 39,6	73,7 36,6	87	85	85 85	131	136 132
$3 \cdot 10^{-5}$	140 146	229 158	51	116	117 117	160	162 164
$8 \cdot 10^{-5}$	274 283	512 478	10,4	167	166 167	188	185 188
$3 \cdot 10^{-4}$	237 255	498 551	— 2,9	155	157 154	193	199 190

[1]) Hier wie in den folgenden Tabellen erfolgte die Berechnung der prozentualen Steigerung der Assimilationsgröße unter Berücksichtigung der vor Salzzusatz zwischen Versuchs- und Kontrollgefäß bestehenden Differenzen.

Beispiel: Assimilationswert im Versuchsgefäß vor Kalizusatz = 42,6
„ „ Kontrollgefäß = 39,6
Assimilationswert im Versuchsgefäß nach Kalizusatz = 73,7
„ „ Kontrollgefäß = 36,6

Die Steigerung errechnet sich nun nicht aus der Differenz 73,7—36,6, sondern aus $73{,}7 - 36{,}6 \cdot \frac{42{,}6}{39{,}6} = 73{,}7 - 39{,}4 = 34{,}3$ oder 87%.

des Sauerstoffverbrauchs im Versuchs- und Kontrollgefäß stattfindet. Eine Abnahme des Chlorophyllgehalts war dabei nicht zu erkennen [vgl. Emerson (1935)]. Die Verringerung der Assimilationsleistung um 2,9% bei der höchsten Kalikonzentration ($3 \cdot 10^{-4}$ mol) berührt die Grenze der Meßgenauigkeit der manometrischen Methode, zumal bei unseren Mangelzellen mit einem etwas weniger gleichmäßigen Verlauf der Assimilationskurven gerechnet werden mußte; sie kann aber auch eine Schockwirkung der im Überschuß zugegebenen K-Ionen darstellen.

Da somit eine sehr eindeutige Wirkung der Kaligaben auf die Assimilation von Kalimangelzellen nachgewiesen werden konnte, mußte natürlich auch die Atmung mit in die Betrachtung eingezogen werden, vor allem deshalb, weil klarzustellen war, ob die Momentananregung für alle Stoffwechselprozesse oder nur für den Assimilationsapparat charakteristisch ist. Tab. 9 zeigt das Ergebnis eines Atmungsversuches.

Tabelle 9.

Wirkung von Kaliumnitrat auf die Atmung von Kalimangelchlorellen. Alter der Kultur 8 Tage. Gasraum Luft-CO_2-Gemisch. 20,5°. 6 ccm Standardsuspension pro Gefäß. Versuchszeit 5—7 Stunden.

mol K zu Beginn der Kultur	Atmung mm³ CO_2 pro Std.		%-Differenz.
	ohne K	mit K	
$8{,}0 \cdot 10^{-6}$	21,3	10,7	— 50
$1{,}6 \cdot 10^{-5}$	21,2	11,5	— 46
$2{,}4 \cdot 10^{-5}$	14,8	6,9	— 53
$4 \cdot 10^{-5}$	12,2	7,5	— 37
$8 \cdot 10^{-5}$	8,6	6,7	— 23
$2 \cdot 10^{-4}$	8,9	7,9	— 11

Es läßt sich deutlich erkennen, daß die gesteigerte Atmung bei Kalimangelzellen (vgl. Tab. 6) durch Kaligaben rasch herabgedrückt wird. Im vorliegenden Reihenversuch ist dieser Effekt über den ganzen Bereich der untersuchten Kalistufen zu beobachten, wenn auch die Atmungsverringerung bei stärkerem Kalimangel am größten ist. Der Enderfolg dieser Kaliwirkung ist, daß nach Kaligabe der größte Unterschied zwischen den Atmungsgrößen innerhalb der Reihe 11,5—6,7 = 4,8 mm³ O_2/h beträgt, während die Extreme vor der Kaligabe um 21,3—8,6 = 11,7 mm³

auseinanderlagen. — Die beobachtete Atmungsverringerung macht zugleich wahrscheinlich, daß die Erhöhung der Atmung vor Kalizufuhr keine postmortale Erscheinung darstellt, sondern daß die Atmung in unseren Versuchen der Regulation durch die lebende Zelle unterworfen ist. — In diesem Zusammenhang sei ausdrücklich daran erinnert, daß die Berechnung der Atmungsgröße unter Annahme eines Atmungsquotienten von — 1 erfolgte; an der Tatsache der Atmungsverringerung nach Kaligabe würde jedoch nichts geändert, wenn der Quotient erheblich von — 1 abwiche; denn bei dem gleichbleibenden Atmungsmaterial ist kaum anzunehmen, daß die Verschiedenheiten der stündlichen Druckabnahme vor und nach Kalizufuhr durch sprunghafte Änderung des Quotienten hervorgerufen sein kann. Ferner sei noch darauf hingewiesen, daß die Atmungsmessung erheblich längere Versuchszeiten erfordert als die Messung der Assimilationsgröße; infolgedessen ist es nicht möglich, eine Änderung der Atmung schon nach so kurzer Zeit festzustellen, wie es der Assimilationsversuch gestattet. Die verschiedenen Versuche, die wir ausführten, um die Beeinflussung der Dunkelatmung von Kalimangelchlorellen durch Kaligabe kennenzulernen, zeigten im übrigen, daß die Größe der Ausschläge mit dem Alter der Kalimangelkultur abnimmt, wahrscheinlich deshalb, weil die gesteigerte Atmung langsam in eine postmortale Reaktion übergeht und damit von der Regulation durch die Zelle unabhängig wird.

Die Tab. 10—12 geben die Ergebnisse einer Versuchsreihe wieder, bei der wir die Momentananregbarkeit ein und derselben Kalimangelkultur-Reihe bei verschieden langer Kulturdauer untersuchten (7, 11 und 16 Tage). Die Assimilation wurde gemessen vor Kalizusatz, direkt nach Kaligabe, anschließend daran nochmals und schließlich noch einmal nach neunstündiger Verdunkelung. (Bei der ältesten Kultur, Tab. 12, wurde diese letzte Messung weggelassen.)

An die Versuche wurden Chlorophyllbestimmungen und in den beiden ersten Fällen auch Zellzählungen angeschlossen.

Wir fassen das aus den Tab. 10—12 ersichtliche Ergebnis zusammen: Die Kalimangelerscheinungen nehmen mit Verlängerung der Kulturdauer zu, d. h. sie verschieben sich in den

Tabelle 10 und 11.

Anregung der Assimilation von Chlorellazellen aus Kulturen verschiedenen Kaligehalts bei kürzerer und längerer Kulturdauer. Pro Gefäß 7 ccm Suspension. Gasraum: Luft-CO_2-Gemisch. In den Ansatzretorten der Versuchsgefäße 0,2 ccm 3,5% KNO_3-Lösung (= $1 \cdot 10^{-2}$ mol nach Zusatz zu 7 ccm Suspension). Der zweite Wert jeder Kalistufe bezeichnet die Kontrolle (ohne K).

mol K zu Beginn der Kultur	Assimilation mm³ O_2 pro Std.							g^{-6} Chlorophyll in 10 ccm Standardsusp.			Zellzahl		
	vor Kalizusatz	nach Kalizusatz 30 Min.	%	90 Min.	%	12 Std.	%	vor Versuch	nach Versuch	%	vor Versuch	nach Versuch	%
Kulturdauer 7 Tage.													
$8 \cdot 10^{-6}$	135	227	74	249	79	283	109	111	128	16	110	145	32
	150	145		154		140			114	3		141	28
$1{,}6 \cdot 10^{-5}$	209	287	23	311	33	412	51	150	164	9,8	167	231	38
	206	231		230		268			148	—1,3		235	41
$2{,}4 \cdot 10^{-5}$	180	256	19	281	23	371	50	158	166	6,5	198	248	25
	177	206		215		233			158	0		238	20
$4 \cdot 10^{-5}$	216	256	9	236	—1	280	10	212	212	0	174	218	25
	204	225		219		241			212	0		220	26
$8 \cdot 10^{-5}$	193	205	—2,5	212	—5	250	—7	205	208	1,5	185	201	9
	209	226		241		284			204	—0,5		207	12
$2 \cdot 10^{-4}$	226	243	2,0	240	—1,5	284	—3	205	206	0,5	170	194	14
	230	243		249		300			212	6		190	12
Kulturdauer 11 Tage.													
$8 \cdot 10^{-6}$	3,9	9,3	41	9,3	2,8	64,0	610	105	103	+2	96	102	6
	3,9	6,6		9,0		9,0			102	+3		97	1
$1{,}6 \cdot 10^{-5}$	82,5	115	44	136	76	200	134	109	135	24	127	144	13
	84,5	82,5		79,2		88			125	15		146	15
$2{,}4 \cdot 10^{-5}$	100	156	56	162	76	215	135	115	135	18	144	154	7
	98,0	98,0		90		89			134	17		145	0,8
$4 \cdot 10^{-5}$	133	155	35	171	52	158	70	146	156	7	151	174	15
	131	112		111		92			158	8		170	13
$8 \cdot 10^{-5}$	136	156	—0,7	160	7,5	153	20	146	160	10	161	174	8
	135	156		148		126			162	11		173	8
$2 \cdot 10^{-4}$	161	181	+0,7	195	1	159	—6,5	160	170	6	163	177	9
	139	155		179		147			170	6		178	9

Tabelle 12 (wie vorige). Kulturdauer 16 Tage.

mol K zu Beginn der Kultur	Assimilation mm^3 O_2 pro Std.					g^{-6} Chlorophyll in 10 ccm Standardsusp.		
	vor Kalizusatz	nach Kalizusatz						
		45 Min.	Δ%	120 Min.	Δ%	vor Versuch	nach Versuch	Δ%
$8 \cdot 10^{-6}$	5,1	— 6,1	—	— 17,6	—	40	39	— 2,5
	6,3	— 6,3		— 11,5			39	— 2,5
$1{,}6 \cdot 10^{-5}$	18,9	14,8	(12)	— 15,6	—	56	56	0
	16,9	9,5		— 13,4			56	0
$2{,}4 \cdot 10^{-5}$	25,1	25,1	(560)	8,9	—	57	57	0
	21,0	3,2		— 6,7			57	0
$4 \cdot 10^{-5}$	52,5	41,0	62	74,0	95	69	67	— 2,9
	52,5	25,3		38,0			67	— 2,9
$8 \cdot 10^{-5}$	124	126	31	220	125	86	85	— 1,2
	130	101		104			85	— 1,2
$2 \cdot 10^{-4}$	185	176	20	199	19	113	113	0
	179	142		162			112	— 1

Bereich der höheren Anfangskonzentrationen. Sie bestehen in einer Abnahme von Assimilationsleistung und Chlorophyllgehalt, wobei aber keine direkte Proportionalität zwischen beiden Größen besteht; vielmehr sinkt im Bereich des stärkeren Kalimangels die Assimilation mehr als die Chlorophyllkonzentration der Standardsuspensionen. So fällt z. B. bei einer Anfangskonzentration von $1{,}6 \cdot 10^{-5}$ mol K die Assimilationsgröße im Verlauf von 7 Tagen Kulturdauer von einem stündlichen Betrag von durchschnittlich 207 über 83,5 auf 17,9 mm^3/h ab, also auf etwa den 12. Teil, die zugehörigen Chlorophyllmengen jedoch nur von 150 über 109 auf 56 je /10 ccm Standardsuspension, d. h. auf knapp $^1/_3$.

Was die Assimilation direkt nach Kalizusatz betrifft, so erkennt man auch in diesen Versuchen eine deutliche Momentananregung, die mit steigender Kulturdauer ins Gebiet der höheren Anfangskonzentrationen vorrückt. Während bei 7tägiger Kultur das Anregungsmaximum von 74% bei der Stufe $8 \cdot 10^{-6}$ mol liegt, hat es sich mit 62% Steigerung nach 16tägiger Kultur nach der Stufe $4 \cdot 10^{-5}$ mol verschoben. Bei dieser ältesten Kulturreihe beobachtet man ferner, daß die Suspensionen der stärksten Mangelbereiche in einen Zustand gekommen sind, der eine wirksame Assimilationssteigerung nicht mehr zuläßt. Zwar

haben die mit Kalium versehenen Suspensionen $1{,}6 \cdot 10^{-5}$ und $2{,}4 \cdot 10^{-5}$ mol zunächst noch mit Erhöhung ihrer Assimilationsleistung reagiert; bei der ersteren jedoch wurde die Assimilation in Versuch und Kontrolle schon nach 45 Minuten sistiert und machte einem starken, teilweise durch Photooxydation bedingten Sauerstoffverbrauch Platz; bei der letzteren assimilierten die Zellen nach derselben Zeit eben noch mit positiver Bilanz, während die Kontrolle bereits negative Assimilationswerte aufwies. Wir haben daher die bei diesen beiden Stufen beobachtete anfängliche Steigerung mit Klammern versehen.

Von den 12 Stunden nach Kaligabe gemessenen Assimilationswerten sind besonders beachtlich die der drei niedrigsten Kalistufen der 11 tägigen Kultur. Sie zeigen, daß die Steigerung mit der Zeit noch erheblich zunimmt, offenbar eine Folge davon, daß die Reaktionsfähigkeit der Zellen mit zunehmendem Mangel verlangsamt wird. Dabei ist allerdings daran zu denken, daß als Folgeerscheinung der Assimilationserhöhung auch eine Mehrproduktion von Zellen und Chlorophyll einsetzen könnte. Die nach einer insgesamt 16stündigen Versuchsdauer gemessenen Chlorophyllgehalte und Zellzahlen zeigen in Kontrollen und Versuchsmanometern einen deutlichen Anstieg; die Vermehrung der Zellzahlen in den Versuchsmanometern überwiegt dabei die Vermehrung der Kontrollen nicht erheblich, weil in diesen Mangelbereichen offenbar das Kalium die Zellvermehrung noch nicht völlig begrenzt. Dagegen hat fast überall eine zusätzliche Steigerung des Chlorophyllgehalts infolge des Kaliumzusatzes stattgefunden. So betrug z. B. nach 7tägiger Kultur bei der Kalistufe $8 \cdot 10^{-6}$ mol nach 12stündiger Kaliumeinwirkung der Unterschied der Zellvermehrung gegenüber der Kontrolle 4%, die zusätzliche Chlorophyllbildung 13% bei einer Assimilationssteigerung von 109%; in einigen Fällen überwiegt die Zellvermehrung die Chlorophyllneubildung. Wichtig aber ist in diesem Zusammenhang nur, daß selbst viele Stunden nach Kaligabe keinerlei Beziehung zwischen Assimilationsanregung und Chlorophyll- und Zellvermehrung besteht; das zugeführte Kali-Ion beeinflußt diese beiden letzteren Größen also erst sekundär.

In der 16 Tage alten Kultur der Tab. 12 gliedert sich der Kalimangel in zwei Bereiche: bei $8 \cdot 10^{-6}$ und $1{,}6 \cdot 10^{-5}$ mol ist eine Assimilationsanregung durch Kalizufuhr nicht mehr festzustellen; von $4 \cdot 10^{-5}$ bis $2 \cdot 10^{-4}$ mol bewirken Kaligaben eine nach dem Gebiet höherer Kali-Konzentration abfallende Momentananregung; die Grenze beider Bereiche liegt bei der Stufe $2{,}4 \cdot 10^{-5}$ mol K. Wir führten nun an dieser Kalimangelreihe eine Messung der Zellgrößen aus. Tab. 13 zeigt das Ergebnis:

Tabelle 13.
Abhängigkeit der Zellgröße vom Kalimangel.
Alter der Kultur 16 Tage.

mol K zu Beginn der Kultur	$8 \cdot 10^{-6}$	$1{,}6 \cdot 10^{-5}$	$2{,}4 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$
Zellvolumen in μ^3	810	550	465	217	240	217	205

Die anregbaren Zellen der Suspensionen mit geringerem Kalimangel haben eine Durchschnittsgröße, wie sie für Zellen in normaler Teilung typisch ist. Bei der Kultur mit $2{,}4 \cdot 10^{-5}$ mol K, die an der Grenze der Anregbarkeit liegt, weist die Zellgröße eine sprunghafte Steigerung auf. Die beiden nichtanregbaren Suspensionen stärksten Kalimangels haben Zellen, welche sehr groß sind und teilweise einen deutlichen Chloroplastenzerfall zeigen. Da bei Hemmung der Zellteilung eine Volumenvergrößerung der Chlorellazellen stattfindet, ergibt sich, daß die Anregbarkeit der Assimilation durch Kaligaben zugleich mit der Fähigkeit zur Zellteilung erlischt.

Die Assimilationswerte der höchsten Kalistufe ($2 \cdot 10^{-4}$ mol) bei 11 tägiger Kultur (Tab. 11) zeigen gegenüber der entsprechenden Stufe in der 7 tägigen Kultur (Tab. 10) eine Assimilationssenkung von durchschnittlich 34%, obwohl die höchste Stufe noch nicht in den Bereich der Momentananregbarkeit gekommen war. Da damit gerechnet werden mußte, daß diese Leistungssenkung eine Folge des Dichterwerdens der Kultur und des damit verbundenen durchschnittlich geringeren Lichtgenusses der Zellen ist, wurde ein

Versuch mit normal ernährten Chlorellen angesetzt, um den Einfluß der Kulturdauer bzw. der Suspensionsdichte gesondert zu prüfen. Dabei kamen im Assimilationsversuch verschiedene Lichtintensitäten zur Anwendung.

Tabelle 14.

Einfluß der Kulturdauer auf die Assimilation normal gezüchteter Chlorellen bei verschiedenen Lichtintensitäten.

Assimilation (abs.) in mm^3 O_2 pro Std. Von 1500 Lux ab 2 Parallelbestimmungen. 7 ccm Standardsuspension pro Gefäß. Gasraum: Luft-CO_2-Gemisch.

Lichtintensität Lux	Kulturalter 4 Tage Standardvolumen 55 ccm	Lichtintensität Lux	Kulturalter 9 Tage Standardvolumen 390 ccm	Diff.-%
—	—	45	14,4	—
100	19,4	100	28,5	+ 44
150	32,5	—	—	—
225	56,9	225	63,0	+ 11
1500	243	1500	130	— 47
	235		130	— 45
4800	305	4800	150	— 51
	303		143	— 53
8000	358	8000	152	— 58
	353		148	— 58
Atmung	— 12,7	Atmung	— 8,5	— 33
	— 12,9		— 8,2	— 36

Tab. 14 faßt das Ergebnis zusammen: bei hohen Intensitäten war bei den auf gleiche Dichte eingestellten Suspensionen mit Zunahme der Kulturdauer eine Senkung der Assimilationsgröße verbunden; bei sehr niedrigen Lichtstärken dagegen wiesen die älteren (dichteren) Kulturen eine Steigerung der Assimilation auf. Die Atmung der älteren Kultur war erniedrigt; es sei dazu bemerkt, daß wir gelegentlich bei sehr dichten Suspensionen langer Kulturdauer eine erhöhte Atmung fanden, doch schien in solchen Fällen zugleich eine Anormalität des Atmungquotienten vorzuliegen.

Wir können also aus Tab. 14 entnehmen, daß die Chlorellazelle mit zunehmender Suspensionsdichte eine Anpassung an niedere Lichtintensitäten ausführt, daß also die Veränderungen der Assimilationsleistung bei längerer Kulturdauer offenbar in

erster Linie auf das Licht und weniger auf »innere Faktoren« oder Alterserscheinungen zurückzuführen sind. Solche Anpassungen werden wir natürlich auch bei unseren Mangelkulturen in Rechnung zu setzen haben. Für die im obenerwähnten Fall beobachtete Leistungssenkung bei der Kalikonzentration $2 \cdot 10^{-4}$ mol ist zweifellos die Zunahme der Suspensionsdichte mehr verantwortlich zu machen als die Wirkung des Kalimangels. Andererseits wird im Bereich stärkeren Kalimangels dieser selbst in seiner Wirkung überwiegen. Im Prinzip aber besteht, wenigstens bei Kultur in mineralischer Nährlösung, die bei Ionenmangel hervorgerufene Verringerung der Assimilationsleistung stets aus zwei Komponenten: der eigentlichen Mangelwirkung und dem Einfluß der Suspensionsdichte, d. h. der Kulturdauer. Daraus ergibt sich u. a., daß es wenig Sinn hat, bei chlorotischen Mangelkulturen aus mineralischer Nährlösung direkte Beziehungen zwischen Chlorophyll und Assimilationsleistung aufzustellen, wozu Emerson (1929) und Fleischer (1935) bei Kultur im zuckerhaltigen Medium mit dessen anderen Wachstumsbedingungen zweifellos berechtigt waren. Zugleich erwächst die Forderung, den Kalimangel auch in glukosehaltiger Nährlösung zu untersuchen. Wir haben diese Arbeit in Angriff genommen.

Die vorstehenden Versuche über die Anregbarkeit der Assimilation durch Kaligaben haben wir mit Lichtintensitäten ausgeführt, bei denen die photosynthetische Leistung unseres Materials ganz oder nahezu unabhängig von der Lichtstärke war, die Blackmansche Reaktion also die Geschwindigkeit des Gesamtprozesses bestimmte. Es lag nahe, zu fragen, ob die Anregbarkeit der Mangelzellen durch Kaligaben eine Eigenschaft der Blackmanschen Reaktion allein sei und es waren daher auch Anregungsversuche bei niedrigen Lichtintensitäten anzustellen. Wir belichteten zunächst Mangelsuspensionen, deren Assimilation bereits bei hoher Lichtstärke (12 000 Lux) durch Kaligabe angeregt worden war, mit der geringen Lichtstärke von 50 Lux, die, in der Nähe des Kompensationspunktes gelegen, die Bedingungen der photochemischen Reaktion liefert. Die Anregung blieb, wie aus Tab. 15 zu ersehen, auch bei dieser Beleuchtungsstärke erhalten.

Tabelle 15.

Assimilationsgröße von Kalimangelzellen nach Anregung im starken Licht bei nachfolgender schwacher Beleuchtung.

Assimilation in mm^3 O_2/h. Der untere Wert bezieht sich auf die Kontrolle. Pro Gefäß 7 ccm Standardsuspension. Im Ansatz der Versuchsgefäße 0,2 ccm 3,5% KNO_3-Lösung.

mol K am Anfang der Kultur	abs. Assimilation 12 000 Lux vor K-Zus.	abs. Assimilation 12 000 Lux n. K-Zus.	Δ%	bei 50 Lux anschließend: Assim.-Überschuß	Atmung	abs. Assimilation	Δ%	Δ% Chlorophyll	Δ% Zellzahl
$8 \cdot 10^{-6}$	135	283	109	+ 15,9	— 6,3	+ 22,2	74	16	32
	150	140		— 6,10	— 20,2	+ 14,1		3	28
$2{,}4 \cdot 10^{-5}$	180	371	50	+ 31,8	— 9,8	+ 41,6	31	6,5	25
	177	233		+ 13,4	— 16,7	+ 31,1		0	20

Dabei zeigte bei der Kultur mit stärkerem Kalimangel die kalifreie Kontrolle einen Wert unterhalb des Kompensationspunktes, die mit Kali versehene Kultur dagegen eine positive Bilanz. Die Atmung selbst ist im vorliegenden Versuch durch Kaligabe stark erniedrigt worden, wodurch die Assimilationsausbeute im Bereich der niederen Intensitäten natürlich besonders begünstigt wird. Die Steigerung der absoluten Assimilationsgröße durch Kalizufuhr ist bei schwacher Belichtung in beiden Fällen geringer als vorher bei hoher Lichtstärke, eine Tatsache, die sich leicht erklären läßt, da ja im Bereich der photochemischen Reaktion das Licht neben dem fehlenden Kaliumion eine wesentliche Rolle als begrenzender Faktor spielen muß. Daß aber trotz schwacher Belichtung die Anregung überhaupt bestehen bleibt, ist ein Zeichen dafür, daß der Kalimangel den Assimilationsapparat in seiner Gesamtheit betrifft und die Kaligabe nicht etwa die Störung einer der Teilreaktionen, d. h. der Photoreaktion oder der Blackman-Reaktion, beseitigt.

Tab. 16 gibt einen weiteren Versuch an, bei dem ein und dasselbe Kalimangel-Material bei drei verschiedenen Lichtintensitäten durch Kalizusatz angeregt wurde. Auch hier ist eine augenblickliche Steigerung bei allen Lichtstärken zu verzeichnen, wobei wiederum das Ausmaß der Steigerung bei schwacher Intensität am geringsten ist. Die Atmungserniedrigung durch

Kalizusatz ist in diesem Versuch verhältnismäßig gering, was wir auf die lange Kulturdauer dieser Suspension zurückführen.

Tabelle 16.

Assimilationsgröße (abs.) von Kalimangelzellen bei Kaligabe im Bereich verschiedener Lichtstärken.

Kali zu Beginn der Kultur $3 \cdot 10^{-5}$ molar. Kulturalter 14 Tage. Der untere Wert bezieht sich auf die Kontrollbestimmung. Gasraum: Luft-CO_2-Gemisch 7 ccm Standardsuspension pro Gefäß.

Lichtintensität in Lux	Assimilation (abs.) in mm^3 O_2 pro Std. vor Kaligabe	nach Kaligabe	Δ%	Assimilation in der anschließenden Meßperiode	Δ%	Atmung nach Kaligabe
100	23,0 23,2	26,8 22,6 (Meßzeit 4 Std.)	16	48,5 36,0	28	—[1]
1 100	118 118	145 121 (Meßzeit 1 Std.)	20	174 129	35	— 11,0 — 12,9
11 000	147 155	177 140 (Meßzeit ½ Std.)	34	222 140	65	— 12,0 — 15,4

Der Konzentrationsbereich von 0—$2 \cdot 10^{-4}$ mol K, den wir zur Anzucht chlorotischer Kalimangelkulturen anwendeten, liegt weit unter der Kalikonzentration der »Normal«lösung ($1 \cdot 10^{-2}$ mol). Es war nun festzustellen, ob auch im Bereich höherer Kaligaben eine Wirkung des Kaliumions auf die Photosynthese besteht. Die Konzentrationen unserer Anzuchten waren hierfür $5 \cdot 10^{-4}$, $1{,}5 \cdot 10^{-3}$ und $1 \cdot 10^{-2}$ mol K/l, d. h. neben der »normalen« Kaliummenge wurde $^1/_7$ und $^1/_{20}$ dieser Konzentration gegeben. Tab. 17 führt zunächst die Assimilationswerte der drei Kaliumstufen bei einer Kulturdauer von 6 Tagen (sehr junge Suspensionen) an und zwar bei drei verschiedenen Lichtintensitäten.

Dabei liegt das Maximum der Assimilationsleistung nach 6 Tagen Kulturdauer bei der mittleren Konzentration. Es

[1]) Der Berechnung der abs. Assimilation wurden die Atmungswerte des zweiten Versuches (1100 Lux) zugrunde gelegt, da die Atmungsmessung weggelassen werden mußte.

Tabelle 17.

Einfluß der Kulturdauer auf die Assimilationsgröße von Chlorella im Bereich höherer Kaligaben (3 verschiedene Lichtstärken).

3 Parallelbestimmungen der Assimilation (mm^3 O_2 pro h) bei jeder Kalistufe 7 ccm Standardsuspension pro Gefäß.

I. Alter der Kultur: 6 Tage									
	$5 \cdot 10^{-1}$ mol K			$1{,}5 \cdot 10^{-3}$ mol K			$1 \cdot 10^{-2}$ mol K		
Standard-volumen	7,5 ccm			8,5 ccm			4,4 ccm		
275 Lux	116	120	116	120	120	111	104	96	95
1 100 ,,	365	370	380	395	405	403	265	276	240
12 000 ,,	573	585	573	720	730	705	500	504	451
II. Alter der Kultur: 8 Tage									
Standard-volumen	23 ccm			20,5 ccm			12 ccm		
275 Lux	104	110	101	78	76	78	117	98	102
1 100 ,,	220	224	229	196	192	195	328	305	297
12 000 ,,	325	325	344	255	246	259	430	452	425

folgt die niedrigste, während die »Normal«stufe die schwächste Leistung aufweist. Dieses Verhältnis ist bei sämtlichen Beleuchtungsstärken dasselbe. Würde man sich auf eine solche Messung beschränken, so könnte man zu dem Schluß kommen, daß bei mäßiger Kaligabe — ähnlich wie bei Gaßner und Goeze (1934) — die Assimilationsleistung ein Maximum aufweist. Wir untersuchten jedoch dieselbe Kulturreihe nach einem weiteren Wachstum von zwei Tagen und fanden, daß nunmehr die höchste Assimilationsleistung bei $1 \cdot 10^{-2}$, die geringste dagegen bei $1{,}5 \cdot 10^{-3}$ gelegen war, d. h. nach zwei Tagen hatte sich das Verhältnis der Assimilationsgrößen umgekehrt. Diese Erscheinung läßt sich wiederum erklären durch die Zunahme der Suspensionsdichten in den Kulturen. Bei der stärksten Kalikonzentration hat die Suspensionsdichte in der zwischen beiden Messungen liegenden Zeit infolge der anfänglich geringeren Assimilationsleistung und Zellproduktion am wenigsten zugenommen, die absolute Assimilationsgröße bei starker Belichtung war daher nur von durchschnittlich 485 auf 435 gesunken; die Kultur mit mittlerer Kalimenge war infolge stärkster Assimilation zugleich so stark gewachsen, daß die Suspensionsdichte bei hoher Lichtstärke bereits einen erheb-

lichen Einfluß auf die Assimilation ausübte; eine beträchtliche Leistungssenkung, von 720 auf 255, ist die Folge. Zwischen beiden Extremen liegt die Assimilationsverringerung der Kultur mit $5 \cdot 10^{-4}$ mol K, die in beiden Fällen die Mittelstellung einnimmt (von 575 auf 330). Bei der geringen Lichtintensität von 275 Lux sind zum Unterschied zur Maximalbeleuchtung die Leistungsveränderungen bedeutend geringer, d. h. bei dieser Lichtstärke übt die Suspensionsdichte nur einen geringen Einfluß auf die Assimilation aus, eine Tatsache, die mit den in Tab. 14 wiedergegebenen Befunden gut in Einklang zu bringen ist.

Auf Grund dieses und zahlreicher weiterer Versuche, die in ähnlicher Weise wie der in Tab. 7 dargestellte angesetzt wurden und die hier im einzelnen nicht angeführt werden sollen, kommen wir zu dem Schluß, daß in einem oberhalb des chlorosebedingenden Kalimangels gelegenen Konzentrationsbereich das Maximum der Assimilationsleistung nach kurzer Kulturdauer bei den kaliärmeren Kulturen gelegen ist und sich mit zunehmender Dichte ins Gebiet höherer Kaligaben verschiebt. Zu Beginn des

Tabelle 18.
Wachstumsverlauf von Chlorellakulturen verschiedenen Kaligehalts (Standardvolumina in ccm).

Tag nach Beimpfung	$2 \cdot 10^{-4}$ mol K	$3 \cdot 10^{-3}$ mol K	$1 \cdot 10^{-2}$ mol K	$5 \cdot 10^{-2}$ mol K
7	23	22	10	8
9	119	119	131	78
12	350	380	372	334

Tabelle 19.
Wachstumsverlauf von Chlorellakulturen verschiedenen Kaligehalts (Zellzahlen in $4 \cdot 10^{-3}$ cmm Suspension).
I, II, III: Parallelkulturen.

Tage nach Beimpfung	I				II				III			
	mol K				mol K				mol K			
	$2 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$
4	6,6	6,0	5,0	3,6	5,0	3,3	2,6	2,3	3,3	2,9	2,6	2,3
6	55	48	45	14	30,7	17,8	18,3	10,6	42,2	22,0	19,8	7,7
8	132	105	135	101	53	50	60	51	68	59	66	44

Versuchs der Tab. 17 hatte das Maximum schon die zweitniedrigste Kalistufe erreicht, während die niedrigste offenbar den Höhepunkt schon überschritten hatte. — Wie die Assimilation verhält sich auch die Zellvermehrung: In kaliarmen Kulturen ist sie zu Beginn am größten, um sich dann mit fortschreitendem Wachstum einem Sättigungswert zu nähern. Die kalireicheren Kulturen dagegen wachsen zunächst langsamer, um dafür später den Rückstand gegenüber den kaliärmeren weitgehend aufzuholen. In Tab. 18 und 19 stellen wir die Ergebnisse von Wachstumsmessungen an Kulturen verschiedenen Kaligehaltes zusammen (Konzentration der Normallösung $1 \cdot 10^{-2}$mol K). Wir haben in die Messung noch eine Kaliüberschuß-Kultur einbezogen ($5 \cdot 10^{-2}$ mol K, d. h. die fünffache Menge der Normallösung enthaltend), die sich in das Gesamtbild gut einfügt, da sie die stärkste Hemmung zu Beginn der Kultur zeigt und entsprechend später die höchste Wachstumsgeschwindigkeit entwickelt, um den Vorsprung der anderen Kulturen wettzumachen.

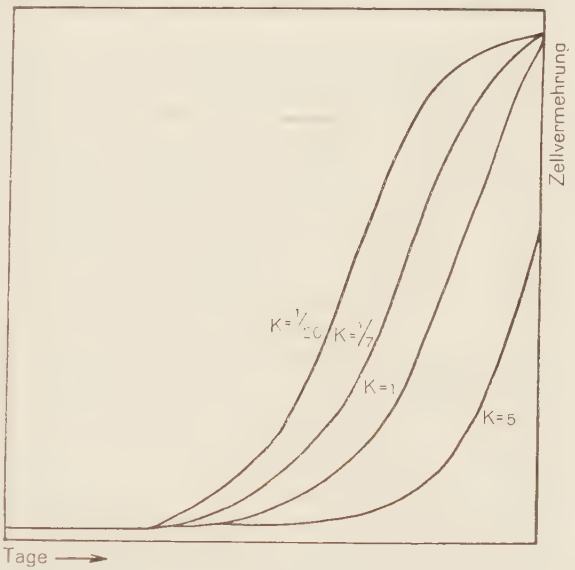

Abb. 6. Wachstumsverlauf von Chlorella im Bereich mittlerer und höherer Kaligaben. K = 1 entspricht dem Kaligehalt der »Normallösung«.

Tab. 18 führt Wachstumsmessungen an, bei denen die Standardvolumina als Maß dienen, während Tab. 19 lediglich Zellzahlen enthält. — Wir fassen das Ergebnis der Wachstumsmessungen (die zugleich ein ungefähres Maß für den zeitlichen Verlauf der Assimilationsgröße darstellen) in einem schematischen Diagramm (Abb. 6) zusammen.

2. Manganmangel.

Wir haben die Wachstumsvorgänge bei mäßigem Kalimangel und Kaliüberschuß deshalb eingehender behandelt, weil wir im Verlauf unserer Untersuchungen feststellten, daß die beobachtete anfängliche Verlangsamung des Wachstums mit steigendem Kaligehalt der Lösung in weitgehendem Maße beeinflußbar ist durch die Konzentration der Manganionen. Diese Wechselbeziehung zwischen beiden Kationen äußert sich vor allem darin, daß bei niedrigem Mangangehalt die Kulturen mit hohen Kaligaben im Wachstum zurückbleiben, während bei reichlicher Manganversorgung die Geschwindigkeit der Zellvermehrung zu Beginn der Kulturversuche bei weitem weniger von der Kalikonzentration bestimmt wird. Am stärksten wirkt sich die Erscheinung aus, wenn sich Kaliumchlorid im Überschuß befindet ($5 \cdot 10^{-2}$ mol/l).

Tabelle 20.
Wachstumsverlauf von Chlorellakulturen bei verschiedenem Mangan- und Kaligehalt. (Zellzahlen in $4 \cdot 10^{-3}$ cmm Kultursuspension.)

Tage nach Beimpfung	Mn = 0		Mn = $5 \cdot 10^{-9}$ mol					Mn = $5 \cdot 10^{-7}$ mol	
	$2 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-2}$
	mol K		mol K					mol K	
0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
4	0,8	0,6	0,7	0,7	0,7	0,6	0,4	15,0	12,5
7	1,0	1,0	2,78	1,2	0,9	0,8	0,7	110,3	99,5
9	1,2	0,9	7,10	5,2	2,1	0,8	0,7	248	218
12	2	1,2	34	16,5	7,0	2,2	1,1	407	328
14	2,2	1,1	62	51	20	3,0	1,5	620	408

Tab. 20 zeigt den Wachstumsverlauf verschiedener Kalistufen bei drei ansteigenden Mangangaben; bei der manganfreien und der manganreichen Kultur wurde das Wachstum nur an den beiden extremen Kalistufen gemessen. Die Kultur mit mittlerer Mangankonzentration wurde bei fünf ansteigenden Kaligaben ausgewertet. Bei fehlendem Manganion ist das Wachstum so stark behindert, daß große Unterschiede bei hohem und niederem Kaligehalt nicht bestehen, wenn auch die kaliärmere Kultur die doppelte Zellzahl aufweist. Bei einer Mn-Konzentration

von $5 \cdot 10^{-9}$ mol/l besteht eine klare Abhängigkeit der Zellvermehrung von der vorhandenen Kalimenge. Bei einem Kaliverhältnis von 1 : 3 : 8 : 20 : 100 haben wir nach 14tägiger Kulturdauer ein Zellzahlenverhältnis von 62 : 34 : 17,3 : 2,4 : 1. Bei einer Mangankonzentration von $5 \cdot 10^{-7}$ mol, einer Menge, die der Hälfte des Mangangehalts unserer »Normallösung« entspricht, sind die Unterschiede bei beiden extremen Kalikonzentrationen erheblich geringer. Die Zellzahlen, welche bei $5 \cdot 10^{-9}$ mol im Verhältnis von 62 : 1 standen, verhalten sich hier wie 62 : 46,8.

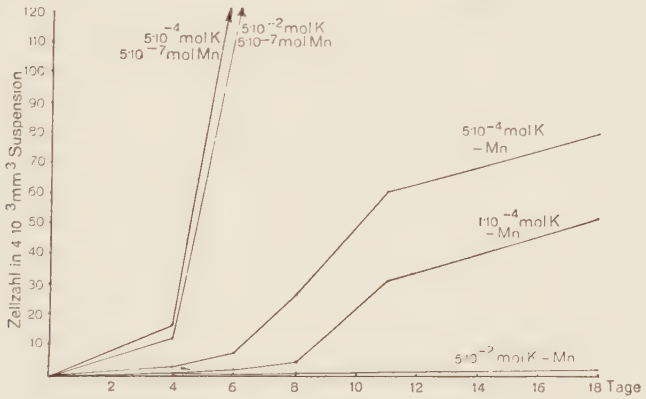

Abb. 7. Wachstumsverlauf von Chlorella bei An- und Abwesenheit von Mangan und bei verschiedenen Kalikonzentrationen. Die Pfeile weisen auf die außerhalb des Koordinatensystems gelegenen nächst höheren Werte.

Abb. 7 zeigt den Vergleich des zeitlichen Wachstumsverlaufes von Kulturen, denen kein Mn zugesetzt war und solchen, die $5 \cdot 10^{-7}$ mol Mn erhalten hatten. Die Mn-»freien« Ansätze wuchsen hier im Bereich der beiden geringen K-Konzentrationen zwar an, was auf eine geringste Verunreinigung durch Mangan schließen ließ, strebten aber bald einem Endwert zu, ein Zeichen absoluten Mn-Mangels. Die Zellvermehrung in der mit überschüssigem Kali versehenen Kultur blieb auch nach 18 Tagen kaum meßbar. Dieselbe Kalistufe hatte bei $5 \cdot 10^{-7}$ mol Mn schon vom 4. Tage an eine intensive Zellproduktion zugelassen, die sich von der ebenso mit Mn versetzten Kalimangelkultur nur wenig unterschied. Bei Abbruch des Versuchs nach 18 Tagen wiesen diese Suspensionen eine tief schwarzgrüne Färbung mit

maximaler Zellenzahl auf. — Abb. 10 gibt einen Versuch wieder, bei dem die Zellen in 4 Kalistufen bei einer Mangangabe von $5 \cdot 10^{-8}$ mol angezogen wurden. Nach anfänglichem Wachstumsstillstand beginnt die kaliärmste Kultur vom 4. Tage ab mit kräftiger Zellteilung, es folgen die anderen Kalistufen der Reihe nach in ähnlicher Weise vom 7. bis zum 9. Tage nach der Beimpfung. Bei Abbruch des Versuchs hatte die Kultur mit höchstem Kaligehalt erst eine geringe Zellvermehrung aufzuweisen.

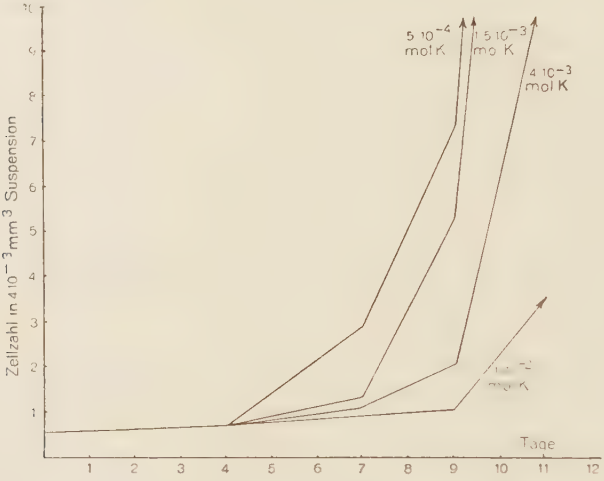

Abb. 8. Wachstumsverlauf zu Beginn der Kultur bei geringerer Mn-Menge und verschiedenen Kalikonzentrationen.

Die Herstellung unsrer »Kaliüberschuß«lösung ($5 \cdot 10^{-2}$ mol K/l) erfolgte in der Weise, daß zu der »Normal«lösung zusätzlich eine Menge von $4 \cdot 10^{-2}$ mol KCl zugegeben wurde. Diese Kalistufe unterscheidet sich daher von den anderen dadurch, daß sie eine höhere osmotische Wirksamkeit besitzt. Es war deshalb zu prüfen, wie sich eine gleiche Menge zusätzlichen Natriumchlorids bei niedriger Mn-Konzentration auf das Wachstum der Zellen auswirken würde. Abb. 9 läßt erkennen, daß durch Na-Zusatz im Überschuß eine fast ebenso große Wachstumshemmung bei schwacher Mn-Belieferung hervorgerufen wird.

Die Manganwirkung ist also dem Einfluß dieser zusätzlichen

KCl- und NaCl-Mengen in gleicher Weise unterworfen, während die Kali-Konzentrationsbereiche von $5 \cdot 10^{-4}$ bis $1 \cdot 10^{-2}$ mol lediglich einen Kalieinfluß zeigen, weil hier ja die Lösungen durch teilweisen Ersatz des Kaliums durch Natrium hergestellt wurden. — Tab. 21 zeigt die Endzählungen 12 Tage alter Kulturen, bei denen neben NaCl auch $CaCl_2$ in äquinormaler Dosis zusätzlich gegeben wurde. Während bei $5 \cdot 10^{-7}$ mol $MnCl_2$ eine gleichmäßig gute Entwicklung zu verzeichnen ist, ist diese bei $5 \cdot 10^{-9}$ mol minimal und zwar wiederum in allen

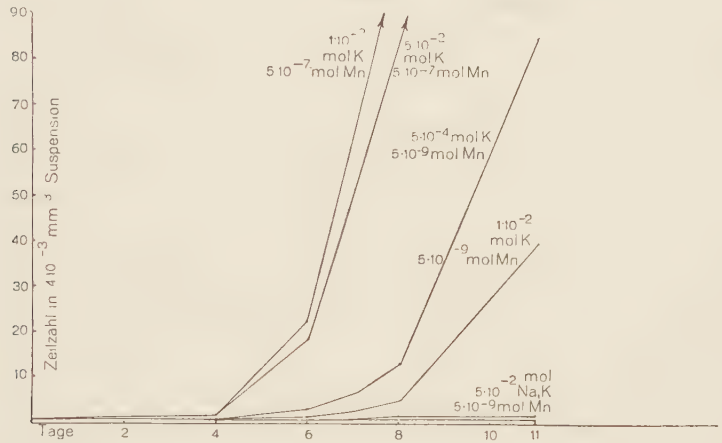

Abb. 9. Wachstumsverlauf von Chlorella in Abhängigkeit von Kali-, Natrium- und Mangankonzentration.

drei Fällen etwa gleichermaßen. Bei zusätzlicher Gabe wirken also alle 3 Chloride hemmend. Es bleibt zu prüfen, ob die drei verschiedenen Kationen oder das jeweils in gleicher Menge

Tabelle 21.

Entwicklung von Chlorellakulturen mit verschiedenen Mn-Mengen bei zusätzlichen Salzgaben zur Nährlösung.

Zählung nach 14tägiger Kultur (Zellzahlen in $4 \cdot 10^{-3}$ cmm Kultursuspension).

$5 \cdot 10^{-7}$ mol Mn			$5 \cdot 10^{-9}$ mol Mn		
$\frac{n}{25}$ KCl	$\frac{n}{25}$ NaCl	$\frac{n}{25}$ $CaCl_2$	$\frac{n}{25}$ KCl	$\frac{n}{25}$ NaCl	$\frac{n}{25}$ $CaCl_2$
230	239	238	1,2	4,6	1,2

zugeführte Chlorion in diesen Versuchen für die Erhöhung des Mn-Bedarfs der Chlorellazellen verantwortlich zu machen sind.

Wir fassen das Ergebnis dieses Abschnittes zusammen:

Beim völligen Fehlen des Mn-Ions unterbleibt jegliche Vermehrung. Zum Einsetzen eines normalen Zellwachstums sind bei steigendem Kaligehalt auch steigende Mn-Konzentrationen nötig. Bei $5 \cdot 10^{-9}$ mol Mn sind die kaliarmen Kulturen zunächst stark im Vorteil gegenüber den kalireicheren, die ihrerseits erst mehrere Tage später mit langsamer ansteigendem Wachstum beginnen. Bei $5 \cdot 10^{-7}$ mol Mn/l ist diese Verschiebung des Wachstumsbeginns noch eben zu erkennen; hier verschwinden jedoch die Unterschiede mit zunehmender Kulturdauer weitestgehend (vgl. den Abschnitt über Kalimangel). Zusätzliche Gaben von KCl, NaCl und $CaCl_2$ gestatten bei $5 \cdot 10^{-9}$ mol Mn überhaupt kein Wachstum mehr. Hier ist zum Einsetzen der Teilungen eine Mn-Konzentration von $5 \cdot 10^{-7}$ mol erforderlich. (Bei $5 \cdot 10^{-8}$ mol erfolgte übrigens in einem Falle nach wochenlanger Hemmung auch hier noch eine Weiterentwicklung der Zellen!) Wir betonen schon hier — unter Hinweis auf die Diskussion —, daß der p_H-Wert unserer Kulturen zu Beginn etwa 4,2 betrug.

Im Hinblick darauf, daß über die physiologische Funktion des Mangans noch keine Klarheit besteht und, zumal bei höheren Pflanzen, sehr verschiedene Erscheinungen als Manganmangelsymptome beschrieben werden, erschien es wünschenswert, Manganmangel-Kulturen auch in die Stoffwechselmessungen einzubeziehen.

Wir benutzten zu diesem Zwecke zunächst eine Kultur mit folgender Vorgeschichte: Beim Ansetzen der Lösungen waren nicht die reinsten Chemikalien verwendet worden. Zwei Ansätze, mit geringer und normaler Kalimenge wuchsen daher zunächst gut an, während ein weiterer mit Kaliüberschuß zuerst zurückblieb. Es war nach den Befunden des vorigen Abschnitts also mit einer Mn-Verunreinigung von etwa 10^{-7} bis 10^{-8} mol zu rechnen. Die hohe Kalistufe setzte nach einiger Zeit mit gutem Wachstum ein, während die beiden anderen Kulturen zu dieser Zeit ihr Wachstumsmaximum überschritten hatten und Manganmangelerscheinungen aufwiesen. Als solche

Erscheinungen beobachteten wir: vorzeitiges Absitzen der Zellen und bei sehr starkem Mangel ein vergrößertes Zellvolumen. Zum Unterschied von Kalimangelzellen ließen die Mn-Mangelkulturen zunächst keine Chlorose erkennen, auch wenn die Zellteilung bereits nahezu zum Stillstand gekommen war. So enthielten z. B. 10 ccm einer Mn-Mangelsuspension (Standardsuspension) bei Kalimangel 140 γ Chlorophyll, eine ebensolche Parallelkultur mit ausreichender Mn-Gabe zur Zeit gleicher Suspensionsdichte 136 γ Chlorophyll pro 10 ccm Standard, also sogar eine etwas geringere Menge bei Manganzufuhr; dieser Vergleich ist freilich nicht exakt durchzuführen, weil zur Erreichung gleicher Zelldichten von + - und — Mn - Kulturen natürlich verschiedene Kulturzeiten benötigt werden. Immerhin kann von Chlorose bei Mn-Mangel bei unsern Versuchsbedingungen (hohe Fe-Gaben!) keine Rede sein. Blieben Kulturen sehr lange unter dem Einfluß des Mn-Mangels an der Anzuchtanlage, so trat natürlich auch hier Chlorophyllschwund ein, jedoch verbunden mit einem Absterben der Zellen.

Wir brachten nun die drei Kalistufen nach Abbruch der Kulturen in bekannter Weise nach dem Standardisieren zur Assimilationsmessung in die manometrische Apparatur, wobei je zwei Gefäße im Ansatz eine Mn-Menge enthielten, die in der Versuchssuspension später eine Konzentration von $1 \cdot 10^{-6}$ mol Mn herzustellen gestattete. Wie bei den Kaliversuchen wurde auch hier vor Ionenzusatz, direkt nachher und anschließend noch einmal die Assimilation bestimmt. Die Verwendung von je drei Manometern erlaubte uns, bei jeder Kalistufe den Mn-Zusatz zweimal und zwar zu verschiedenen Zeiten auszuführen, wodurch das Ergebnis an Sicherheit gewinnt. Die in Tab. 22 angegebenen Werte sind Assimilationsüberschüsse. Wir verzichteten hier auf die Atmungsmessung; aus anderen Versuchen ging übrigens hervor, daß die Atmung keine eindeutige Reaktion auf Mn-Mangel und Mn-Zusätze gibt. Die Messung wurde über längere Zeit ausgedehnt und durch eine längere Dunkelperiode unterbrochen. 120 Min. nach der ersten Manganzugabe wurden die Manometer geöffnet und zum Zweck einer sofortigen Zellzählung je ein Tropfen Suspension entnommen. Nach Abbruch des Versuchs wurden, wie bei den Kalimangelkulturen, Endzählungen und Chlorophyll-

bestimmungen ausgeführt, damit eine etwaige Zellvermehrung und Chlorophyllzunahme in Rechnung gesetzt werden konnte. — Bei den beiden kaliärmeren Suspensionen ist eine Momentananregbarkeit der Photosynthese durch Manganzusatz unverkennbar. Bei hohem Kaligehalt kam dagegen eine augenblickliche Steigerung nicht zustande; erst nach längerer Zeit (im Anschluß

Tabelle 22.

Momentanwirkung von Manganchlorür (10^{-6} mol) auf die Assimilationsleistung (mm^3 O_2 pro Std.) von Manganmangelchlorellen aus Kulturen verschiedenen Kaligehalts.

Lichtintensität 12 000 Lux. I und III Versuchsmanometergefäße; II Kontrollen. Gasraum: Luft-CO_2-Gemisch. Ansätze der Versuchsgefäße enthalten 0,2 ccm 0,00007% $MnCl_2$.

	$5 \cdot 10^{-4}$ mol K			$1 \cdot 10^{-2}$ mol K			$5 \cdot 10^{-2}$ mol K		
Standardvolumen	45			40			31		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
vor Mn-Zusatz. . .	274	284	284	201	195	201	276	286	276
	189	201	201	183	180	174	280	295	289
30 Min. nach Mn-Zusatz in I	208	208	220	205	161	151	280	295	293
120 Min. nach Mn-Zusatz in I . . .	**388**	226	256	**293**	120	123	**305**	337	320
Zellzählung nach 120 Min.	126	119	124	132	128	137	142	130	150
nach 8 Std. Dunkelpause	702	340	422	635	252	255	675	520	442
30 Min. nach Mn-Zusatz in III . .	—	243	345	552	215	253	615	405	455
120 Min. nach Mn-Zusatz in III . .	—	216	**403**	572	236	**426**	725	472	**420**
Zellzahl bei Schluß des Versuchs . .	129	119	118	139	137	135	172	170	175
Chlorophyllgehalt nach Versuch g^{-6} pro 10 ccm Stand.	175	168	172	140	146	144	129	134	134

an die Dunkelperiode) war auch hier eine Assimilationserhöhung festzustellen. Es scheint also die zusätzliche Kalimenge in der Stufe $5 \cdot 10^{-2}$ mol durch Hemmung der Mn-aufnahme die Wirkung abzubremsen. — Trotz der Assimilationssteigerung hatten sich in den kaliärmeren Kulturen Zellzahlen und Chlorophyll-

gehalt gegenüber der Kontrolle nur unwesentlich verändert. Beim Fehlen chlorotischer Erscheinungen war eine erhebliche Beeinflussung der Chlorophyllbildung durch den Mn-Zusatz an und für sich unwahrscheinlich. Die kalireiche Mangelkultur hatte bei geringerer Assimilationssteigerung einen stärkeren Zuwachs an Zellzahlen, ein Zeichen dafür, daß hier der Mn-mangel wegen des anfänglich geringeren Wachstums der Suspension die Zellteilung noch nicht stillgelegt hatte.

Tabelle 23.

Wirkung von Mangangaben auf Manganmangelzellen (starker Mn-Mangel) zweier Kalistufen.

Assimilation in mm^3 O_2 pro Std. 7 ccm Standardsuspension pro Gefäß. Lichtintensität 12 000 Lux. Gasraum: Luft-CO_2-Gemisch.

	K = $5 \cdot 10^{-4}$ mol			K = $1 \cdot 10^{-2}$ mol		
Standardvolumen	71			44		
	I	II	III	I	II	III
vor Manganzusatz	44	42	42	50	50,5	52
30 Min. nach Mn-Zusatz in I . . .	38	25,5	31,2	50,5	50,5	56,2
90 Min. nach Mn-Zusatz in I . .	50,2	44,0	44,0	53,5	50,5	56,8
Δ % nach 90 Min.	10%			7%		
nach 10 Std. Dunkelpause	86	69	69	129	109	111
3 Std. nach Mn-Zusatz in III .	86	33	49	78	50	68
Δ % bei Versuchsschluß	153%		48%	57%		30%

Bei verschiedenen Kulturen mit genau dosierten Mn-Zusätzen machten wir jedoch die Feststellung, daß die Reaktionsfähigkeit der Mn-Mangelzellen gegenüber Mn-gabe im Assimilationsversuch nicht immer gleichmäßig ist. Das hat zur Folge, daß in einigen Versuchen die Anregung der Assimilation trotz einwandfreien Mn-Mangels auch im Bereich niedriger Kalistufen länger auf sich warten ließ. Wir können vorläufig noch keine Erklärung für diese Unregelmäßigkeit geben, vermuten aber,

daß der p_H-Wert für die Geschwindigkeit der Mn-Aufnahme bei Chlorella und damit für das Einsetzen der Reaktion von großer Bedeutung ist. Versuche mit kontrollierten p_H-Werten sind hier notwendig. Es sei aber betont, daß wir die Fähigkeit der Manganmangelzellen, auf Mangangabe mit einer Momentansteigerung der Assimilationsleistung zu reagieren, auf Grund mehrerer einwandfreier Versuche grundsätzlich für erwiesen halten. Der Vollständigkeit halber sei in Tab. 23 ein Versuch dargestellt, bei dem die Steigerung der Photosynthese länger auf sich warten ließ und erst nach 3—10 Stunden klar erkennbar wurde. Auch hier erhielten die mit III bezeichneten Gefäße den Mn-Zusatz erst nach der Dunkelpause.

Wir erwähnen noch, daß wir zur Kontrolle auch Suspensionen aus Anzuchten mit normaler Mn-Versorgung im Assimilationsversuch mit einer zusätzlichen Mn-Gabe (Konzentration wie oben) versahen, ohne damit irgendeine Reaktion auslösen zu können.

3. Nitratmangel.

Die Feststellung, daß an Chlorellazellen, die bei ungenügender Kalium- oder Manganversorgung angezogen worden sind, die Auswirkungen dieses Mangels auf Stoffwechselprozesse durch Zufuhr der K- bzw. Mn-Ionen augenblicklich behoben werden können, gab uns Veranlassung, ein weiteres Element in den Bereich unserer Fragestellung einzubeziehen, um dadurch einen Anhaltspunkt dafür zu bekommen, ob die beobachtete Momentanreaktion eine für alle Mangelzellen charakteristische Erscheinung ist. Wir wählten aus diesem Grunde als Mangelelement den Stickstoff, zugleich deshalb, weil zu erwarten war, daß N-Mangel eine stärkere Störung von Zellstruktur und Stoffwechselvorgängen zur Folge haben würde als die durch das Fehlen von Kalium und Mangan hervorgerufene Assimilationshemmung darstellt.

Bei der Bedeutung des Stickstoffs als Baustein der organischen Zellsubstanz ist es nicht verwunderlich, daß Mangelerscheinungen schon bei Konzentrationen auftreten, bei denen etwa das Kalium noch ein optimales Wachstum ermöglichen würde. Schon bei einer KNO_3-Konzentration von $5 \cdot 10^{-4}$ mol/l — der osmotische Wert wurde durch entsprechenden Zusatz von KCl zur Normallösung konstant gehalten — war in kürze-

ster Zeit eine Stickstoffmangelchlorose der Zellen zu erkennen. Neben diesem größeren Chlorose-Bereich ist zum Unterschied vom Kalimangel für den Nitratmangel charakteristisch, daß auch nach dem Auftreten der Chlorose die Mangelzellen ihre Teilung lebhaft fortsetzen. Die Folge davon ist, daß die Zellgröße sich in zunehmendem Maße verringert. Eine typisch chlorotische Nitratmangelzelle hat ein durchschnittliches Volumen von etwa 100 μ^3, d. h. nur $^1/_3$—$^1/_4$ des Volumens einer im normalen Medium gewachsenen Zelle. Auch zeigen die Zellen Abweichun-

Tabelle 24.

Wirkung von Nitrat auf die Assimilation von Nitratmangelzellen.

Alter der Mangelkulturen 12 Tage.

Im Ansatz der Versuchsgefäße 0,2 ccm 3,5% KNO_3-Lösung (= $1 \cdot 10^{-2}$ mol KNO_3). Gasraum: Luft-CO_2-Gemisch. Assimilation in mm^3 O_2 pro Stunde. Lichtintensität 12 000 Lux. 7 ccm Standardsuspension pro Gefäß.

	$1 \cdot 10^{-4}$ mol KNO_3		$2 \cdot 10^{-4}$ mol KNO_3	
Standardvolumen	9,5 ccm		17,5 ccm	
Chlorophyllgehalt g^{-6} pro 10 ccm Standardsuspension	63		76	
Assimilation vor Nitratzusatz	Versuch 66	Kontrolle 61	Versuch 64	Kontrolle 70
50 Min. nach Nitratzusatz	100	64	98	78
Prozent Steigerung nach 50 Minuten	44%		38%	
140 Minuten nach Nitratzusatz	81	49	106	66
nach 12 Stunden Dunkelpause	134	46	115	80
Prozent Steigerung am Schluß des Versuchs	168%		58%	
g^{-6} Chlorophyll n. Versuch pro 10 ccm Standardsuspension	88	58	82	71
Prozent Steigerung des Chlorophylls	52%		16%	
Zellzahl nach Versuch (vor Versuch nicht bestimmt)	183	107	182	107
Prozent Steigerung der Zellzahl	10%		9%	
Atmung nach Nitratgabe (während der Dunkelpause)	— 21,5	— 9,8	— 18,0	— 16,1

gen von der normalen kugeligen Gestalt, wobei aber der Chloroplast trotz Chlorophyllschwundes keine deutlichen Zerfallserscheinungen aufweist.

Wir brachten nun Suspensionen solcher Mangelzellen in ihrer Kulturlösung in die Manometergefäße, deren Ansätze KNO_3 in einer dem Gehalt der normalen Nährlösung entsprechenden Menge enthielten. Der Verlauf des Assimilationsversuches entspricht dem früher für Kali- und Manganmangelsuspensionen beschriebenen. Tab. 24 faßt die Versuchsdaten zusammen.

Auch hier wiederum ist eine vom Grade des Nitratmangels abhängige momentane Assimilationserhöhung nach Nitratzufuhr unverkennbar. Am Schluß des Versuches hat diese Steigerung noch erheblich zugenommen. Es liegt offenbar eine den bei Kali- und Manganmangel beobachteten Erscheinungen analoge Reaktion vor. Betrachten wir aber die Chlorophyllwerte von Versuchs- und Kontrollsuspensionen nach dem Versuch, so wird ein wichtiger Unterschied gegenüber den entsprechend behandelten Kalimangelsuspensionen deutlich. Während die Kalimangelzellen nach Kaligabe auch bei längerer Versuchszeit ihren Chlorophyllgehalt gegenüber der Kontrolle nur mäßig erhöhten, beobachten wir bei den Nitratmangelzellen eine Steigerung von vielen Prozenten gegenüber den Kontrollen. Diese Steigerung des Chlorophyllgehaltes trägt zweifellos hier erheblich bei zu der Erhöhung der Assimilationsleistung, wenngleich auch in diesem Falle, zumal kurze Zeit nach der Nitratzugabe, eine Proportionalität von Assimilations- und Chlorophyllzunahme nicht bestehen kann und daher das Vorhandensein einer chlorophyllunabhängigen Leistungssteigerung der Photosynthese angenommen werden muß.

Es besteht aber noch ein weiterer Unterschied im Verhalten von Kali- und Nitratmangelzellen: während bei Kalimangel die Zellatmung erhöht ist und durch Kaligabe eine sofortige Erniedrigung erfährt, wird die Dunkelatmung der Nitratmangelchlorellen — ebenfalls rasch — gesteigert, sobald das fehlende Nitration zugeführt wird. Tab. 25 zeigt einen Versuch, bei dem schon vor der ersten Ablesung in einem der beiden Manometer Nitrat zur Mangelsuspension zugesetzt worden war. Es fand zunächst eine Atmungsmessung, dann eine Assimilationsbestimmung statt, die beide anschließend

Tabelle 25.

Atmung und Assimilationsüberschuß (mm^3 O_2 pro Std.) von Nitratmangelzellen bei Nitratzusatz.

Zu Beginn der Kultur $1{,}3 \cdot 10^{-4}$ mol KNO_3 in der Nährlösung. Kulturdauer 12 Tage. Nitrat vor der Messung zugegeben (0,2 ccm 3,5% KNO_3/7 ccm = $1 \cdot 10^{-2}$ mol).

	+ KNO_3	Kontrolle
Atmung (10 Stunden) . . .	— 13,5	— 6,0
Assimilation (4 Stunden) .	+ 51,0	+ 11,7
Atmung (3 Stunden) . . .	— 20,7	— 7,4
Assimilation (1½ Stunden) .	+ 99	+ 11,9
Zellzahl nach Versuch . . .	156	142
Zellgröße nach Versuch (μ^3)	127	119

Tabelle 26.

Verhalten von Nitratmangelchlorellen gegenüber Nitrat- und Ammonzusatz.

Die Ansätze der Gefäße I und I′ enthalten 0,2 ccm 3,5% KNO_3 (= $1 \cdot 10^{-2}$ mol N nach Zusatz); die Ansätze der Gefäße III und III′ enthalten 0,2 ccm 2% NH_4Cl (= $1 \cdot 10^{-2}$ mol N nach Zusatz). Gefäße II und II′ dienen als Kontrollen.

Der Zeitpunkt der Zugabe ist durch einen Strich unter dem vorhergehenden Assimilationswert bezeichnet. Assimilation (Überschuß) in mm^3 O_2 pro Std. Hohe Lichtintensität (12 000 Lux). Gasraum: Luft-CO_2-Gemisch. 7 ccm Standardsuspension pro Gefäß.

	$1{,}3 \cdot 10^{-4}$ mol KNO_3			$3{,}8 \cdot 10^{-4}$ mol KNO_3		
Standardvolumen	21 ccm			56,5 ccm		
g^{-6} Chlorophyll pro 10 ccm Standardsuspension . .	53			56		
	I	II	III	I′	II′	III′
vor Salzzusatz	**30,5**	26,3	28,5	**26,0**	26,0	**26,0**
30 Min. nach Salzzusatz in I, I′ und III′	106	18,8	**25,0**	44,0	12,6	12,6
120 Min. nach Salzzusatz zu I, I′ und III′; 90 Min. nach Salzzusatz in III .	136	25,2	15,9	53,5	26,5	22,0
nach 10 Std. Dunkelpause	124	30,0	14,3	125	34	24,0
Atmung nach Salzzusatz (Dunkelpause)	— 30,0	— 6,9	— 46,0	— 20,8	— 4,4	— 39,5
Chlorophyll nach Versuch g^{-6} pro 10 ccm . . .	68	58	65	77	70	78
Prozent-Chlorophyllvermehrung	17%		12%	10%		11%
Zellzahlen nach Versuch .	228	228	237	234	244	230
Zellgrößen nach Versuch in μ^3	110	96,5	103	116	96,5	116

nochmals wiederholt wurden. Auch hier wird sowohl die Assimilation (Assimil.-Überschuß) wie die Atmung erhöht und zwar letztere um das 2—3 fache, erstere auf das 8—9 fache.

Da Chlorella mit gleichem Erfolg sowohl mit Nitrat als mit Ammonsalz als Stickstoffquelle kultiviert werden kann, wurde untersucht, ob die Assimilationssteigerung der Nitrat-Mangelzellen in gleicher Weise von Ammonsalz wie von Nitrat ausgelöst wird; es sollte auf diese Weise ermittelt werden, ob die Anregbarkeit der Assimilation eine Folgeerscheinung des Stickstoffmangels im allgemeinen oder des Nitratmangels ist. Ein diesbezüglicher Versuch wurde so angestellt, daß von den 3 Parallelversuchen zweier Nitrat-Mangelkulturen je einer Nitrat und Ammonchlorid erhielt, während der dritte als Kontrolle diente. Der Versuch (Tab. 26) zeigt wiederum, daß nach Nitratzusatz ein rasches Ansteigen der Photosynthese stattfindet; demgegenüber sinken die Werte der Assimilationsüberschüsse im Anschluß an den Ammonzusatz im Vergleich zur Kontrolle mehr oder weniger langsam ab. Die Atmung der mit Nitrat versehenen Zellen ist gesteigert, eine noch stärkere Atmungserhöhung hat die Ammonsalzgabe zur Folge gehabt.

Addiert man in Tab. 26 die Endwerte der Assimilationsüberschüsse und die Atmungswerte, errechnet also die absolute Assimilationsgröße, so ergibt sich, daß diese auch nach Ammonzufuhr einen Anstieg gegenüber der Kontrolle aufweist, der aber erheblich geringer ist als der, welcher durch das Nitrat ausgelöst wurde. Die Endwerte sind: 1. bei Mangelstufe $1{,}3 \cdot 10^{-4}$ mol KNO_3: nach Nitratgabe 154 mm^3 O_2, nach Ammongabe 60,3 mm^3 O_2, Kontrolle 36,9 mm^3 O_2. 2. bei Mangelstufe $3{,}8 \cdot 10^{-4}$ mol KNO_3: nach Nitratgabe 145,8, nach Ammongabe 73,5, Kontrolle 38,4 mm^3 O_2. Bei Beurteilung dieser Zahlen muß berücksichtigt werden, daß sich der Chlorophyllgehalt bei Nitrat- und Ammongabe erhöht hatte, wodurch der Anteil der Chlorophyll-unabhängigen Assimilationssteigerung an der Gesamtanregung im Falle der Ammongabe sehr gering wird; wir können daher zusammenfassend feststellen, daß Ammonchlorid wie Kaliumnitrat bei Zugabe zu Nitratmangelzellen eine Neubildung von Chlorophyll veranlassen kann, nicht aber in der Lage ist, das Nitrat bei der Momentanregung der Photosynthese

voll zu ersetzen. In der letzten Spalte der Tab. 26 haben wir die nach Beendigung des Versuchs in den einzelnen Manometern gemessenen durchschnittlichen Zellgrößen eingetragen. Man erkennt aus den Zahlen, daß durch die Zufuhr von Stickstoff schon während der Versuchszeit, d. h. etwa 13 Stunden nach Salzzusatz, eine Steigerung des vorher abnorm niedrigen Zellvolumens stattfindet.

Der sehr deutliche Einfluß von Nitrat und Ammonsalz auf die Atmung der Nitratmangelzellen ergibt sich auch aus dem in Tab. 27 dargestellten Versuch, bei dem lediglich die Atmung zur Untersuchung kam, während der Versuchszeit also jede Belichtung ausgeschlossen wurde. Zunächst erhielt Gefäß I Nitrat, später wurde zur Suspension in Gefäß II Ammonsalz zugegeben. Die Steigerung ist wiederum beim Ammonsalz besonders ausgeprägt.

Tabelle 27.
Atmung von Nitratmangelzellen bei Ammon- und Nitratzusatz (mm^3 CO_2 pro Std.).
Konzentration des KNO_3 in der Nährlösung zu Beginn der Kultur $3{,}8 \cdot 10^{-4}$ mol. Ansätze enthalten 0,2 ccm 3,5% KNO_3 bzw. 2% NH_4Cl.
7 ccm Standardsuspension pro Gefäß.

	I	II
1.— 3. Stunde	— 4,05	— 4,05 Nitrat gegeben
3.— 6. Stunde	— 3,55	— 16,6
6.— 8. Stunde	— 3,10 Ammonsalz gegeben	— 16,3
8.—13. Stunde	— 41,0	— 13,6
13.—15. Stunde	— 45,5	— 12,1
Zellzahl nach Versuch . .	236	242
Zellgröße nach Versuch . .	106 μ^3	100 μ^3

Bei den starken Ausschlägen, welche die Atmung der Nitratmangelzellen aufwies, war die für die Berechnung der Atmungsgröße gemachte Annahme eines Atmungsquotienten von — 1 natürlich in Zweifel zu ziehen. Insbesondere konnte man vermuten, daß bei Nitratgabe eine Veränderung des Gaswechsels durch eine einsetzende Nitratreduktion im Sinne Warburgs hervorgerufen wird. Orientierende Versuche zeigten uns, daß

der Quotient tatsächlich von — 1 abweicht; er wies in einigen Fällen erheblich niedrigere Werte auf. Die angegebenen »Atmungs«werte geben daher keine exakten Absolutwerte wieder und sind nur als relativ zu bewerten. Aus diesem Grunde haben wir auch darauf verzichtet, absolute Assimilationsgrößen in den letzten Tabellen anzuführen. Was die Nitratreduktion betrifft, so ist bei Gegenwart von Kohlensäure im Assimilationsversuch eine Bildung von Extrasauerstoff nicht meßbar (Warburg, S. 388). Eine Bildung von Extrakohlensäure im Dunkelversuch nach Nitratgabe würde eine Verringerung der Druckabnahme zur Folge haben, d. h. eine Atmungshemmung vortäuschen; damit scheidet auch diese Erklärungsmöglichkeit für die Druckveränderung aus. Wir haben übrigens in vorläufigen Versuchen bei Ausschluß von CO_2 im Licht eine geringe Druckentwicklung messen können, wenn zu den N-Mangelzellen Nitrat zugegeben wurde. Es scheint also hier im Unterschied zu den Warburgschen Versuchen eine Nitratreduktion unter physiologischen Bedingungen — ohne Verwendung von Salpetersäure — faßbar zu sein. Die geringen Werte sind offenbar auf Kohlehydratmangel zurückzuführen, der ja die Eiweißsynthese hemmen muß. Wir haben daher eingehendere Untersuchungen bei Zufuhr von Zucker in Verbindung mit den notwendigen gasanalytischen Messungen in Angriff genommen.

4. Kultur von Chlorella bei Ausschluß von Calcium.

Nachdem wir bei Chlorella eine starke Empfindlichkeit der Assimilation gegenüber Kalimangel festgestellt hatten, erhob sich die Frage, wieweit der Entzug von Calcium, das ja im allgemeinen als wichtigster Antagonist des Kaliums anzusehen ist, in gleicher oder ähnlicher Weise den Assimilationsapparat beeinflußt. Diese Frage ist bei Chlorella von besonderem Interesse, weil hinsichtlich des Wachstums von verschiedenen Autoren [Schramm (1922), Hopkins (1926), Pringsheim (1926)] eine völlige Indifferenz gegenüber Ca-Entzug festgestellt worden ist.

Wir setzten eine Ca-Kulturreihe an, bei der in zunehmendem Maße das Calciumnitrat der »Normal«lösung durch Natriumnitrat ersetzt wurde. (Konzentration der einzelnen Ca-Stufen:

$Ca_0 = 0$, $Ca_1 = 1{,}6 \cdot 10^{-5}$, $Ca_2 = 4 \cdot 10^{-5}$, $Ca_3 = 1 \cdot 10^{-4}$, $Ca_4 = 5 \cdot 10^{-4}$, $Ca_5 = 3 \cdot 10^{-3}$, $Ca_6 = 1 \cdot 10^{-2}$ n $Ca(NO_3)_2$). Die »vollkommen« Ca-freie Kultur dieser Reihe enthielt Ca-Spuren höchstens infolge von Verunreinigung der Chemikalien (Präparate mit Analysenschein) oder aus dem Neutralglas, dessen Gehalt an CaO jedoch sehr gering ist (0,5 %) und noch unter dem des Jenaer Geräteglases (0,9 %) liegt. Die Zellen hatten sich nach 14 Tagen in sämtlichen Ca-Stufen kräftig entwickelt; im Bereich

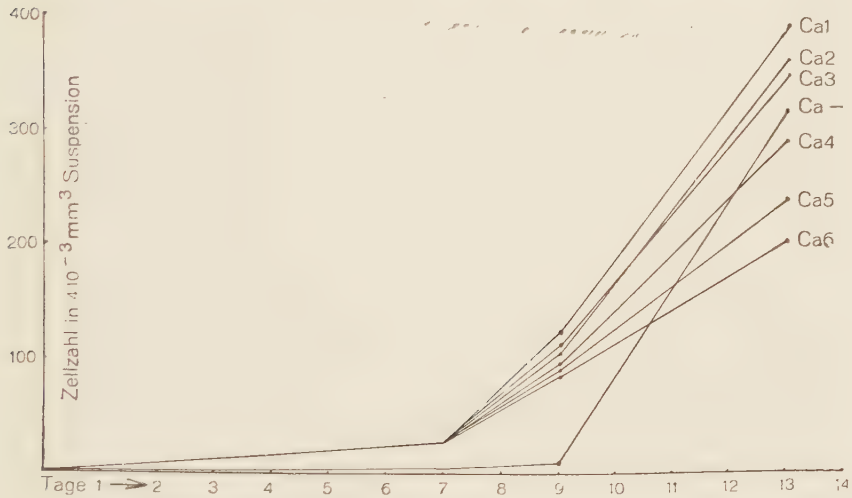

Abb. 10. Wachstumsverlauf von Chlorella bei verschiedenen Ca-Gaben. (Konzentration der Ca-Stufen siehe Text!)

geringer Ca-Mengen war eine etwas erhöhte Zellproduktion festzustellen; im Grundsatz bestand jedenfalls Übereinstimmung mit den Angaben der genannten Autoren. Die an die Kultur anschließende manometrische Untersuchung von Atmung und Assimilation ergab, daß diese Vorgänge durch die verschiedenen Ca-Mengen nicht beeinflußt werden und auch die nachträgliche Herstellung normaler Ca-Konzentration in den Versuchsgefäßen durch Zugabe von Ca-Salz keine Reaktion auslöst. Auf die Wiedergabe der Versuchsprotokolle können wir daher verzichten.

Während sich also Anhaltspunkte für eine Bedeutung des Calciums bei den Stoffwechselvorgängen nicht ergaben, war bei Betrachtung des zeitlichen Verlaufs der Entwicklung eine Besonder-

heit an der »vollkommen« Ca-freien Kultur festzustellen. Sie allein blieb nämlich zu Beginn der Anzucht gegenüber den übrigen Ca-Stufen vollständig im Wachstum zurück, um erst nach mehreren Tagen mit der Zellteilung zu beginnen und in kürzester Zeit den Vorsprung der übrigen Kulturen aufzuholen. Calciummangel übte demnach zu Beginn der Kultur einen ungünstigen Einfluß auf die Vermehrung der Chlorella-Zellen aus (Abb. 10).

Um diese Erscheinung genauer zu untersuchen, setzten wir in der Folge Kulturen mit und ohne Calcium in Quarzkolben an, deren Durchlüftung durch Quarzröhren erfolgte. Das zum Ansetzen dieser Kulturen benützte Wasser war nach zweimaligem Destillieren über Jenaer Glas noch einmal über Quarz destilliert und in Quarz aufbewahrt worden. Die Nährlösung kam während ihrer Herstellung nur mit Quarz in Berührung, so daß Ca-Spuren in der Kultur nur aus den Chemikalien stammen konnten, zumal das Impfmaterial bei diesen Versuchen von Kulturen entnommen wurde, welche bereits ohne Ca angezogen worden waren. Der Erfolg dieser Vorsichtsmaßregeln war, daß die Entwicklung der Ca-freien Kulturen zu Beginn der Versuchsperiode noch länger hintangehalten wurde als in den Versuchen in Neutralglas. — Die Dauer der Wachstumshemmung war freilich in den verschiedenen Versuchen in Quarz nicht ganz gleich. Wichtig ist in diesem Zusammenhang aber, daß das Wachstum in keinem der untersuchten Fälle bei Ca-Ausschluß überhaupt ausblieb, sondern der anfänglichen Hemmung stets ein sprunghaftes Einsetzen des Wachstums folgte, welches bald zu einer Kultur normaler Suspensionsdichte führte. Abb. 11 verdeutlicht einen solchen Fall, bei dem das Einsetzen des Wachstums bei Ca-Ausschluß gegenüber der Ca-haltigen Kontrolle um 10 Tage verzögert war.

Da also auch in Quarzgefäßen eine zwar verspätete, aber doch kräftige Zellvermehrung stattfindet, erscheint es unmöglich, daß diese Vermehrung durch Zufuhr von Calcium im Laufe der Kulturdauer ausgelöst wird. Das Aufhören der Wachstumshemmung muß daher der Veränderung eines anderen Faktors innerhalb der Nährlösung zugeschrieben werden. Es war in erster Linie zu vermuten, daß für die verschiedene Wachstumsintensität zu Beginn der Kultur Unterschiede im p_H-Wert

verantwortlich seien. Die p_H-Werte der Ca-haltigen und Ca-freien Kultur wiesen jedoch keine Unterschiede auf. Die Werte waren: Ca-frei 4,35, Ca-haltig 4,32; nach Einleiten von Luft-Kohlensäure-Gemisch: Ca-frei 4,10, Ca-haltig 4,08. Beim p_H-Wert von 4,08—4,10 beginnt also in Gegenwart von Calcium das Wachstum sofort, beim Fehlen von Ca wird es gehemmt. Da unsere Nährlösungen ein nur geringes Pufferungsvermögen besitzen, steigt der p_H-Wert während des Zellwachstums langsam an, entweder durch Abgabe von Alkalihydroxyd an die Nährlösung (Arens 1933) oder auch durch Verbrauch des Nitrations zum Eiweißaufbau. Das Aufholen der Ca-freien Kulturen ist also verbunden mit einer p_H-Werts-Erhöhung und es war daran zu denken, daß dabei die Zellen in einen p_H-Bereich gelangten, bei dem die Entwicklung unabhängig von der Anwesenheit von Ca-Ionen ist. Um diese Frage zu entscheiden, setzten wir eine Kultur in Quarzkolben an, bei der das Wachstum von Chlorellazellen in Ca-freier Kultur bei niedrigem und durch Zugabe von $NaHCO_3$ etwas erhöhtem Anfangs-p_H-Wert verglichen wurde. Als Kontrolle diente eine Kultur mit normalem Ca-Gehalt und niedrigem p_H-Wert. Während des Wachstums der Zellen wurden laufend Zählungen und Messungen des p_H-Werts ausgeführt.

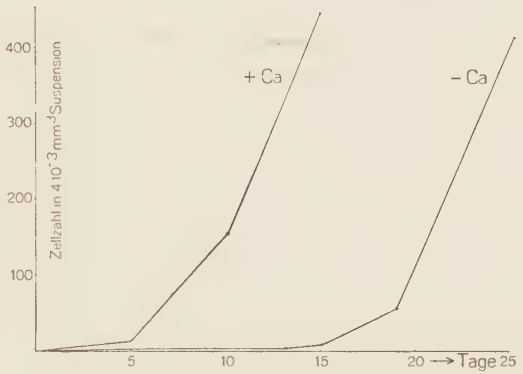

Abb. 11. Wachstumshemmung durch Ca-Mangel zu Beginn einer Chlorella-Kultur (Quarzgefäße).

Tab. 28 zeigt, daß bei gleichem Anfangs-p_H-Wert das Wachstum der Ca-freien Kultur gegenüber der Ca-haltigen wiederum zunächst zurückbleibt. Erhöhung des Anfangs-p_H-Wertes ermöglicht aber auch bei Fehlen von Ca einen normalen Wachstumsbeginn. Der kritische p_H-Wert, unterhalb dessen sich das Fehlen von Calcium durch Wachstumsverzögerung

Tabelle 28.
Zellvermehrung und p_H-Wert bei Ca-freier und Ca-haltiger Kultur.
(Bei den beiden — Ca-Kulturen je 2 Parallelversuche.)

Tage nach Beimpfung	— Ca, Anfangs-p_H-Wert 4,10				— Ca, Anfangs-p_H-Wert > 4,10				+ Ca, Anf.-p_H-Wert 4,10	
	Zell-zahl	p_H	Zell-zahl	p_H	Zell-zahl	p_H	Zell-zahl	p_H	Zell-zahl	p_H
0	0,5	4,10	0,5	4,10	0,5	4,50	0,5	5,20	0,5	4,10
4	0,5	4,15	0,7	4,10	2,5	4,60	2,9	5,30	3,6	4,80
7	2,8	4,20	5,6	4,20	17,6	5,35	21,2	5,45	31,7	5,10
11	12,2	4,80	12,8	4,80	236	6,20	145	6,05	176	6,15
15	299	6,10	406	6,00	706	6,40	493	6,25	428	6,30

bemerkbar zu machen beginnt, liegt zwischen 4,10 und 4,50. Das Aufholen der Ca-freien Kulturen kommt offenbar dadurch zustande, daß durch die Assimilation der wenigen eingeimpften Zellen der p_H-Wert langsam über die kritische Schwelle hinaus gesteigert wird und dann ein rasches Aufholen eintreten kann. Für diese Erklärung spricht auch die Beobachtung, daß das Aufholen der Ca-freien Kultur bei schwacher Beleuchtung, d. h. bei geringerer Assimilationsleistung, bedeutend verzögert wird. Bei Gegenwart von Calcium tritt auch bei niedrigem p_H-Wert Zellvermehrung ein, was natürlich entsprechend rascher auch zu einer Steigerung des p_H-Wertes führt.

Aus unseren Versuchen geht also hervor, daß Ca-Mangel für Chlorella nicht belanglos ist, weil durch ihn die Empfindlichkeit der Zellen gegenüber niedrigen p_H-Werten erhöht wird.

Besprechung der Ergebnisse.

Die meisten Arbeiten, welche sich mit den Beziehungen zwischen Kalium und Photosynthese befassen, führten zu dem Ergebnis, daß bei Kalimangel eine mehr oder weniger deutliche Verringerung der Assimilationsleistung stattfindet. Mit diesem Befund ist jedoch nichts gesagt über die primäre Wirkung des Kaliums; daher konnte in dieser Hinsicht erst eine genauere Analyse des Kaliummangels neue Gesichtspunkte bringen. Im Zusammenhang mit unsern Untersuchungen erscheint uns die Tatsache besonders wichtig, daß nach Gaßner und Goeze (1934) der Chlorophyllgehalt bei Kalimangel weniger

rasch absinkt als die Assimilationsintensität, was darauf hindeutet, daß die primäre Wirkung des Kaliums nicht in einer direkten Regulation der Chlorophyllbildung besteht, wie sie etwa von Emerson (1929) bei Chlorella für das Eisen wahrscheinlich gemacht worden ist. Daß Assimilationsleistung und Chlorophyllmenge nicht parallel zu gehen brauchen, ist ja seit langem bekannt. Ewart (1895), Plester (1912) und vor allem Willstätter (1918) haben gezeigt, daß unter dem Einfluß äußerer und innerer Faktoren die Assimilation bei gleicher Chlorophyllmenge sehr verschieden groß sein kann. Emerson (1935) beobachtete an Chlorella bei starker Belichtung eine Zellvermehrung in Verbindung mit einer Assimilationssteigerung bei gleichbleibendem Chlorophyllgehalt und Fleischer (1935) fand, daß bei Magnesiummangel die Assimilation von Chlorella erheblich stärker leidet als die Chlorophyllbildung. Er schließt daraus, daß dem Magnesium neben seiner Bedeutung für den Chlorophyllaufbau noch eine besondere Aufgabe im Mechanismus der Photosynthese zukommt, wobei er die Frage, ob dabei das Magnesium als Ion wirksam sei, nicht berührt. Weder Fleischer noch Gaßner und Goeze können diese chlorophyll-unabhängige Assimilationshemmung näher definieren. Willstätter vermutet, daß die vom Chlorophyll unabhängige und reversible Veränderung der Photosynthese, die er beispielsweise durch Vorbehandlung mit tiefen Temperaturen hervorrufen konnte, auf Beeinflussung der Aktivität des Assimilationsenzyms zurückzuführen sei, und Müller und Larsen (1935) weisen darauf hin, daß speziell beim Kalimangel ein »protoplasmatischer Faktor« für die Verringerung der Photosynthese verantwortlich zu machen sei, ein Gedanke, der schon von Gregory und Richards (1929) ausgesprochen worden war. Mit einer solchen allgemeinen Formulierung ist freilich noch nicht viel gewonnen; wir glauben mit unsern Untersuchungen zur näheren Kenntnis dieses »protoplasmatischen Faktors« beitragen zu können.

Wenn wir fanden, daß die durch Kalimangel gehemmte Assimilationsleistung bei Zufuhr des fehlenden Kaliums fast augenblicklich gesteigert wird, also mit der gleichen Chlorophyllmenge sofort eine höhere Assimilation zu erzielen ist, so ist dies ein Zeichen dafür, daß der Kalimangel zunächst keine tief-

greifende Schädigung des Assimilationsapparats bewirkt hat. Wenn auch die Chlorophyllmenge verringert worden ist, so zeigt doch die chlorophyll-unabhängige Momentansteigerung, daß auch bei unserm Objekt die Assimilation unter dem Einfluß des Kalimangels stärker abgesunken war, als es der Chlorophyllverminderung entsprochen hätte; dabei war der Assimilationsapparat an sich intakt geblieben, das Fehlen des Kaliums also die einzige Ursache der Assimilationsverringerung gewesen. Ist die Assimilation der Kalimangelzellen zunächst dem Chlorophyllgehalt nicht proportional, so müßte nach Kalizufuhr, d. h. nach erfolgter Momentansteigerung, diese Proportionalität hergestellt werden; die Aufstellung entsprechender Kurven war jedoch nicht möglich, weil bei Kultur in mineralischer Nährlösung der Einfluß der Kulturdauer, bzw. der Suspensionsdichte auf die Assimilationsgröße sich bei den einzelnen Kalistufen in verschiedener Weise zu der Kaliwirkung addiert. Ob sich bei Kultur in glukosehaltiger Lösung diese theoretisch zu fordernde Proportionalität nach Kaligabe ergibt, müssen spätere Versuche zeigen.

Die Geschwindigkeit, mit der die Assimilationssteigerung durch Kalizufuhr ausgelöst wird, erscheint uns für die Erklärung der Kaliwirkung von großer Bedeutung zu sein. Sie macht es unwahrscheinlich, daß das Kalium über eine Kette anderer Prozesse die Assimilation ansteigen läßt; insbesondere glauben wir nicht, daß eine Veränderung im Eiweißgehalt der Assimilationssteigerung vorangeht, wie es nach Gaßner und Franke (1934), Gaßner und Goeze (1934) und Alten und Goeze (1937) auf Grund der beobachteten gleichsinnigen Veränderung von Eiweißgehalt, Chlorophyllgehalt, Assimilation und Transpiration bei Kalimangel möglich erscheint. Unsere Versuche weisen vielmehr auf eine direkte Wirkung des Kalium-Ions auf den Assimilationsapparat hin. Dafür spricht auch die fast allgemein anerkannte Tatsache, daß das Kalium nur als Ion in der Pflanze nachzuweisen ist [Literatur bei Schmalfuss (1936)]. Penston (1931) will es in dieser Form sogar an der Oberfläche der Chloroplasten lokalisiert gefunden haben, was wir freilich nicht in eindeutiger Weise bestätigen konnten. Die Ansicht, daß das Kalium als Ion in der Regulation des Zustandes der Plasmakolloide seine

Hauptaufgabe habe, wird vor allem von Schmalfuß (1934/36) vertreten; auch zur Deutung unserer Versuche erscheint diese Annahme sehr naheliegend. Schmalfuß kommt zu der Anschauung, daß der Wasserzustand der Pflanze, d. h. in erster Linie die Hydratation der Plasmakolloide durch das Kalium, bzw. durch das Verhältnis K:Ca, reguliert wird. Aus dem starken Wasserverbrauch von Kalimangelpflanzen schließt er auf erhöhte Transpiration, die eine Folge davon sei, daß die Kolloide bei Kalimangel die Fähigkeit zur Wasserbindung teilweise verloren haben. Diese Annahme stimmt damit überein, daß unter den physiologisch wichtigen Kationen das K-Ion an der Spitze der lyotropen Reihe steht, also im allgemeinen den Hydratationsgrad der Biokolloide erhöht; die Erfahrungen der Kolloidchemie haben aber gezeigt, daß sich Ionenwirkungen sehr leicht umkehren können, wobei die Ladung der Kolloidteilchen, Konzentrationsverhältnisse und p_H-Wert eine große Rolle spielen. Es kann daher nicht wundernehmen, daß schon hinsichtlich der Wasserabgabe der K-Mangelpflanzen keine Übereinstimmung besteht. Hartt (1934), Snow jr. (1936), sowie neuerdings Alten und Goeze (1937) finden nämlich bei Kalimangel eine herabgesetzte Transpiration. Wie sich diese Unstimmigkeit auch klären mag, so betrifft die beobachtete Reaktion doch nur die ganze Pflanze und damit das gesamte System der Kolloide. Dazu kommt das Spiel der Spaltöffnungen, das sich bei den verwendeten höheren Pflanzen stets störend bemerkbar macht; so können diese Untersuchungen zur Frage der Wirkung des Kaliums auf einzelne Stoffwechselprozesse nichts beitragen.

Unsere Versuche haben gezeigt, daß Atmung und Assimilation von Kalimangelzellen auf Kalizusatz verschieden reagieren. Dem Anstieg der Assimilation steht ein Absinken der vorher gesteigerten Atmung gegenüber; bei Betrachtung der Kaliwirkung als eines kolloidchemischen Phänomens bedeutet dies, daß die Strukturen, an welchen sich Photosynthese und Atmung vollziehen, von demselben Ion gegensätzlich verändert werden. Eine verschiedene Reaktion beider Strukturen muß aber in deren kolloidalem Aufbau begründet sein; so betrifft die vielerörterte Frage nach einer spezifischen Wirkung des

Kaliums auf die Photosynthese weniger spezifische Eigenschaften des Kaliums als den spezifischen Aufbau der Strukturen des Assimilationsapparates und des Chloroplasten als das Organ der Photosynthese, welches diese Strukturen enthält. Dies letztere Problem ist vorläufig zu wenig erforscht, als daß es mit den Besonderheiten der Kaliwirkung in direkte Beziehung gebracht werden könnte. Immerhin muß auf Unterschiede im Aufbau von Chloroplasten und Cytoplasma hingewiesen werden. Beide sind zwar zusammengesetzt aus hydrophilen und hydrophoben Kolloiden, aber schon die Doppelbrechung der Chloroplasten [Scarth (1924)], die von Menke (1934) darauf zurückgeführt wird, daß sich die Moleküle der hydrophoben Lipoidphase in einem parakristallinen Ordnungszustand befinden, zeigt wesentliche Besonderheiten im Feinbau der Chloroplasten auf. Zudem zeigen Systeme von hydrophoben und hydrophilen Kolloiden im Vergleich zu einfacheren kolloidalen Strukturen gerade in ihrem Verhalten gegenüber Neutralsalzen Besonderheiten (Freundlich II, S. 378 f., Bungenberg de Jong u. Mitarb. 1933), die eine Definition der Kaliwirkung, etwa im Sinne einer »Quellung« vorerst unvollständig erscheinen lassen. — In diesem Zusammenhang sei auf eine theoretische Betrachtung von Weiss (1937) hingewiesen, der annimmt, daß im Chloroplasten nur der Teil des Chlorophylls direkt an der Photosynthese beteiligt sei, welcher sich an der Oberfläche der hydrophoben Phase befindet. Es wäre möglich, daß das Kaliumion über die Veränderung der kolloidalen Strukturen eine Regulation dieses aktiven Chlorophyllanteils ausführt.

Die Tatsache, daß Assimilation und Atmung vom Kaliumion beeinflußt werden, ist auch deshalb von Bedeutung, weil dadurch wahrscheinlich wird, daß das Kalium in der Zelle selbst seine Wirksamkeit entfaltet. Stände nämlich nur die Photosynthese unter dem Einfluß der Kaliwirkung, so wäre zu vermuten, daß diese lediglich auf einer Erhöhung der CO_2-Permeabilität beruht; dann würde das Kalium-Ion lediglich die für die Stoffaufnahme maßgeblichen Grenzflächenstrukturen beeinflussen. Nach Arens (1933) soll Kalium außerdem — wenigstens bei schwach alkalischer Reaktion — bei der Einführung von CO_2 in die assimilierende Zelle eine günstige Rolle spielen. In unseren Versuchen ist freilich die zugeführte Menge Kohlensäure sehr groß und der p_H-Wert niedrig.

Wenn wir in der Frage der Spezifität der Kaliwirkung das Hauptgewicht auf den Aufbau der kolloidalen Strukturen legen, so muß zugleich betont werden, daß auch in unseren Versuchen ein Ersatz des Kaliums durch Natrium nicht stattfinden konnte. Diese allgemein beobachtete Erscheinung [Lit. bei Scharrer und Schropp (1934)] zeigt, daß der besondere Aufbau der Biokolloide eine schärfere Trennung der Kali- und Natriumwirkung bedingt als im allgemeinen in kolloidchemischen Modellversuchen beobachtet wird. Auch die Strukturen des Assimilationsapparates von Chlorella zeigen diese Eigentümlichkeit: die Momentananregung hängt nur von der Kalimenge ab und wird durch das an Stelle des Kaliums eingeführte Natrium nicht beeinflußt. Auch der ausgebildete Assimilationsapparat von Fontinalis zeigt eine deutliche Bevorzugung des Kaliums vor dem Natrium: zusätzliches Kalium ruft bei starker Belichtung über einen größeren Konzentrationsbereich eine relative Förderung der Assimilationsleistung hervor, Natrium dagegen eine konzentrationsabhängige Hemmung. Ähnliche Erscheinungen haben Emerson und Arnold (1932) für Chlorella und van der Paauw (1934) für Hormidium beschrieben: im Gebiet alkalischer Reaktion (Karbonat-Bikarbonat-Puffer) bleibt die Assimilation vom Kalium zunächst unbeeinflußt, während durch Natrium ein langsamer Abfall ausgelöst wird.

Die auf Russell (1928) zurückgehende und von Scharrer und Schropp (1934) wiederholte Feststellung, daß Kalium die Substanzausbeute in Landpflanzen bei schwacher Belichtung besonders fördert, läßt sich nach unseren Versuchen nicht direkt auf eine Beeinflussung der Photosynthese zurückführen. Schon Gregory und Richards haben an Gerstenblättern gezeigt, daß Kalimangel die Photosynthese bei starker und schwacher Belichtung hemmt, während nach den Russellschen Angaben an eine spezifische Beeinflussung des photochemischen Teilprozesses zu denken wäre. Die Anregbarkeit der Photosynthese von Kalimangelzellen bei schwacher und starker Belichtung zeigt gleichfalls, daß der Kalimangel nicht Einzelprozesse der Photosynthese, sondern den Assimilationsapparat in seiner Gesamtheit betrifft, womit jedoch nicht gesagt sein soll, daß photochemische und Blackmansche Reaktion an dieselbe Struktur gebunden seien.

Daß die Anregbarkeit bei schwacher Belichtung geringer als bei starker ist, erklärt sich leicht damit, daß bei geringer Beleuchtung die Lichtstärke immerhin eine wichtige Rolle als begrenzender Faktor mitspielen muß.

Es erscheint zunächst erstaunlich, daß auch das Nitration bei N-Mangelchlorellen eine momentane Assimilationssteigerung auszulösen vermag. Es geht daraus offenbar hervor, daß dem Nitration neben seiner Aufgabe als N-Quelle eine weitere Funktion zukommt. Daß diese Funktion wie beim Kalium kolloidchemischer Art ist, erscheint naheliegend, wenn wir die lyotropen Kationen- und Anionenreihen vergleichen. So wie Kalium zumeist die Kationenreihe anführt, steht unter den physiologisch wichtigen Anionen übereinstimmend das Nitration an erster Stelle. Seine Stellung innerhalb der Anionenreihe scheint sogar weniger Unregelmäßigkeiten ausgesetzt zu sein, als die des Kaliums unter den Kationen. Trotzdem muß bei der Regulation der Plasmakolloide dem Kalium die wichtigere Rolle zugesprochen werden. Denn es wird, zum Unterschied vom Nitrat, nicht zum chemischen Aufbau der organischen Substanz verwendet. — Daß Nitrat nicht nur als N-Quelle dient, geht auch daraus hervor, daß im Assimilationsversuch Ammonsalz zwar zur Neubildung von Chlorophyll dienen kann [vgl. Urhan (1932)], nicht aber die vom Nitrat bewirkte momentane Verbesserung der C-Bilanz ausführt. Ob aber das Nitrat dabei in seiner Ionenwirkung für die Chlorellazelle unentbehrlich ist, müssen weitere Untersuchungen ergeben. Es erscheint vorerst fraglich, da Chlorella bekanntlich sowohl mit Nitrat wie mit Ammonsalz als N-Quelle gleichermaßen zur Entwicklung kommt.

Wahrscheinlich haben wir die momentane Anregbarkeit der Photosynthese (und anderer Stoffwechselvorgänge) nicht als Eigentümlichkeit einzelner Ionen, sondern als eine allgemeine Erscheinung anzusehen, welche immer dann auftritt, wenn aus dem Zusammenspiel der Ionen ein Partner herausgenommen wird. Das Ausmaß des Mangelbereiches, in dem eine momentane Assimilationsanregung möglich ist, ließe dann erkennen, wie groß die Rolle des im Mangel befindlichen Ions bei diesem Zusammenspiel ist. Beim Kalium ist dieser Bereich

zweifellos sehr groß; er erstreckt sich über das ganze Mangelgebiet, in dem noch eine positive C-Bilanz gegeben ist. Erst mit dem Aufhören der Assimilation beginnt ein eigentlich schädlicher Kalimangel, dessen Folgen nicht mehr durch momentane Anregung behoben werden können. Der Beginn dieses schädlichen Mangelbereichs wird zugleich durch das Aufhören von Zellteilungen angezeigt.

Wie beim Fehlen anderer Ionen die Verhältnisse liegen, kann erst durch genaue Stoffwechselanalyse der Mangelerscheinungen ermittelt werden. Wir haben diesbezügliche Arbeiten in Angriff genommen. Für das Nitration ist der Bereich reversibler Mangelerscheinungen — soweit wir aus orientierenden Versuchen entnehmen können — erheblich geringer, was durchaus den Erwartungen entspricht und schon daraus hervorgeht, daß bei Nitratmangel die Chlorose stärker als bei Kalimangel in Erscheinung tritt und daher bei folgender Nitratgabe neben der Assimilationssteigerung stets eine Chlorophyllvermehrung festgestellt wurde, während bei Kalimangel in einigen Fällen selbst 15 Stunden nach erfolgter Assimilationsanregung die Chlorophyllmenge unverändert geblieben war.

Die Beobachtung, daß in einem Konzentrationsbereich, der oberhalb des bisher besprochenen liegt, höhere Kaligaben zu Beginn der Kultur eine Hemmung von Wachstum und Assimilationsintensität bewirken, stellt eine Parallele dar zu der von Gaßner und Goeze (1934) an Getreideblättern beschriebenen Hemmung der Photosynthese durch normale Kalimengen. Alten und Goeze haben gezeigt, daß diese Erscheinung darauf zurückzuführen ist, daß bei höherem Kaligehalt der Stickstoff leicht ins Minimum gerät. In unseren Versuchen an Chlorella scheint in ähnlicher Weise das Mangan bei höheren Kaligaben als begrenzender Faktor zu wirken. Denn die Hemmung bei normalen und höheren Kalimengen wurde erheblich deutlicher, wenn der Mn-Gehalt der Nährlösung verringert wurde. Das Verschwinden oder Geringerwerden des Effektes mit zunehmender Kulturdauer ist zweifellos z. T. eine Folge davon, daß bei den anfänglich stärker entwickelten kaliärmeren Kulturen wegen der größeren Suspensionsdichte ein Abfall der Assimilationsleistung stattfand. Wir müssen aber hier auch berücksichtigen, daß

in unseren Nährlösungen bei Zunahme der Zellproduktion ein Anstieg des p_H-Werts erfolgt. Nun liegt nach Olsen (1934) bei den verschiedensten Pflanzen in Wasserkultur (Lemna, Zea, Sinapis) das Optimum der Manganaufnahme bei einem p_H-Wert von 6—7. Bei dem Wert von 4,2, wie ihn unsere Nährlösungen zu Beginn der Kultur aufweisen, wird erheblich weniger aufgenommen. Ist also in unseren Versuchen wenig Mn in der Lösung, so wird sich beim niedrigen Anfangs-p_H-Wert der Mn-Mangel stärker bemerkbar machen, als bei dem höheren Wert von 6—6,5, welchen die Kulturen im Laufe der Anzucht erreichen. Daß wir im Unterschied zu Hopkins (1934) Mn-Mangelerscheinungen ohne Umkristallisieren der Chemikalien und Reinigung der Lösungen durch Adsorption überhaupt hervorrufen konnten, ist wohl in erster Linie auf den niedrigen Anfangs-p_H-Wert zurückzuführen; Hopkins nämlich kultivierte in gepufferten Nährlösungen bei höherem p_H-Wert (7—8) und ohne CO_2-Zufuhr, berührte dabei allerdings den Bereich, in dem bei den Olsenschen Objekten die Mn-Aufnahme wieder abzunehmen beginnt.

Die Ursachen für den Antagonismus von Kalium und Mangan, der sich besonders bei niedrigen p_H-Werten klar zu erkennen gibt, können vorläufig noch nicht festgestellt werden. Die Vermutung liegt freilich nahe, daß dabei das Mn in Form seines zweiwertigen Ions als Antagonist wirksam ist. Dafür würde die Tatsache sprechen, daß die Entwicklung von Chlorella fast oder ganz ohne Ca vor sich gehen kann, die Kolloide der Zelle daher wohl noch an ein anderes zweiwertiges Ion angepaßt sein müssen, das den einwertigen Ionen die Waage zu halten vermag. Ein Ersatz des Ca durch Mn liegt auch deshalb im Bereich des Möglichen, weil Warén (1933, 1936) bei Micrasterias eine Verringerung gewisser Ca-Mangelschäden durch Mangangabe erzielen und in Modellversuchen einen Austausch von Ca und Mn herbeiführen konnte. Andererseits könnte freilich auch das Magnesium zu derselben Aufgabe befähigt sein. Die von Fleischer festgestellte Disproportionalität zwischen Assimilation und Chlorophyllgehalt bei Mg-Mangelchlorellen spricht jedenfalls für die Möglichkeit einer Ionenwirkung des Magnesiums.

Bei hohen (zusätzlichen) Salzgaben besteht ein Antagonismus nicht nur zwischen Kalium und Mangan, sondern auch zwischen Natrium bzw. Calcium und Mangan. Falls nicht — wie früher bereits erwähnt — diese Erscheinung dem Chlorion zuzuschreiben ist, welches bei zusätzlicher Salzgabe mit den verschiedenen Kationen der Nährlösung zugeführt wird, handelt es sich dabei offenbar um eine Folge gestörten Ionengleichgewichtes, das ja sowohl für die Ionenaufnahme, wie für ihre Wirkung in der Zelle von großer Bedeutung ist. Lundegårdh (1932) hat festgestellt, daß die Dörrfleckenkrankheit des Hafers, welche bekanntlich in erster Linie auf Mn-Mangel zurückzuführen ist, durch eine Störung des Ionengleichgewichts — ausgelöst durch hohe K-Gaben oder Ca-Überschuß — stark begünstigt wird. Auch hier kann über den Mechanismus der Erscheinung nichts Näheres ausgesagt werden.

Die momentane und chlorophyllunabhängige Assimilationssteigerung, welche auch Mn-Mangel-Chlorellen bei Zusatz von Mn-Ionen ausführen können, zeigt wiederum an, daß der Assimilationsapparat bei Mn-Mangel zunächst nicht erheblich geschädigt worden ist. Man erkennt dies äußerlich schon daran, daß solche Mn-Mangelzellen keine deutlichen Chloroseerscheinungen zeigen. Der Chlorophyllgehalt gleicher Mengen anregbarer Mangan-, Kali- und Nitratmangelzellen verhält sich z. B. wie 168 : 134 : 58, wobei der erste Wert, der sich auf die Mn-Mangelsuspension bezieht, durchaus im Bereich des Gehalts einer normalen Chlorellakultur gelegen ist. Manganmangelzellen zeigen also trotz normalen Chlorophyllgehalts bei Manganzusatz eine Momentansteigerung der Photosynthese. Das Mangan hat demnach in unseren Versuchen nicht den Einfluß auf die Chlorophyllbildung, der von McHargue (1922), Bishop (1928) u. a. angenommen wird. Dabei ist es freilich wichtig, zu betonen, daß in unseren Versuchen stets sehr viel Eisen zugegen war. Daß das Mn unabhängig von einem Einfluß auf die Chlorophyllbildung eine Beziehung zur Photosynthese aufweist, hat besonders L. P. Miller (1933) betont; Bertrand und Mitarb. (1932) sind auf Grund des hohen Mn-Gehalts grüner Blätter, sowie der unterschiedlichen Mn-Menge in grünen und etiolierten Blättern zu einem ähnlichen Schluß gekommen.

— Die Anregbarkeit der Mn-Mangelzellen braucht in diesem Falle nicht durch eine Ionenwirkung auf die Kolloide des Assimilationsapparats bedingt zu sein, da das Mn-Ion u. U. eine hohe katalytische Wirksamkeit entfaltet. Eine solche Wirkung schreibt ihm Bertrand im System der Oxydase zu. Nach K. Noack (1920) kann es in Modellversuchen zur Photooxydation durch fluoreszierende Farbstoffe als leistungsfähiger Katalysator dienen. Hopkins (1930) vertritt die Ansicht, daß das Mangano-Ion für die Aufrechterhaltung eines günstigen Verhältnisses von Fe‴- zu Fe″-Ionen sorge.

Unsere Kulturversuche bei Ca-Ausschluß lassen in Übereinstimmung mit früheren Arbeiten (l. c.) erkennen, daß das Calcium für die Entwicklung von Chlorella entbehrlich ist, wobei allerdings die in den Chemikalien vorhandenen Ca-Spuren nicht berücksichtigt sind. Bei niedrigem p_H-Wert ist allerdings das Wachstum bei Ca-Mangel stark behindert, so daß hier der Eindruck der Unentbehrlichkeit des Ca entsteht. Offenbar hat bei p_H-Werten unter 4,5 das Calcium auch bei Chlorella eine Funktion und zwar die der Entgiftung von H'-Ionen. Diese Ca-Wirkung ist lange bekannt [vgl. Mevius (1927)]: sie läßt sich auch aus den p_H-Wachstumskurven ablesen, welche Hopkins und Wann (1926) für Chlorella bei An- und Abwesenheit von Calcium abbilden. Wenn demnach das Ca-Bedürfnis vom p_H-Wert abhängt, erscheint es nötig mit den Organismen, bei denen die Bedeutung des Ca fraglich ist, Untersuchungen bei variierten p_H-Werten anzustellen. Dies ist vor allem wünschenswert, seit durch Waris (1936) Zweifel aufgekommen sind an der Ansicht Pringsheims (1926), daß zwischen Ca-Bedürfnis und systematischer Stellung eine Beziehung bestehe.

Die vorliegende Arbeit wurde in den Jahren 1933—36 im Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Berlin ausgeführt. Mein Dank gilt zuerst meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Kurt Noack, für die Anregung zu dieser Arbeit und die Förderung, die er mir in reichem Maße zuteil werden ließ, so besonders durch Überlassung erheblicher Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Auch Herrn W. Menke habe ich für manchen wertvollen Hinweis zu danken.

Zusammenfassung.

1. Der ausdifferenzierte Assimilationsapparat von Fontinalis zeigt bei Zufuhr von Kaliumsalzen über einen Konzentrationsbereich von m/100 — m/12 eine relative Steigerung der Assimilation bei starker Belichtung. Natriumsalz in gleicher Menge ruft einen konzentrationsabhängigen Assimilationsabfall hervor. Die Atmung von Fontinalis ist beiden Ionen gegenüber verhältnismäßig widerstandsfähig.
2. Stärkere, schädliche Ionenwirkungen wurden beobachtet, wenn Fontinalis vor dem Salzzusatz mit dest. Wasser behandelt wurde. Es treten danach auch antagonistische Erscheinungen auf.
3. Kalimangelzellen von Chlorella haben eine verminderte Assimilationsleistung. Sie reagieren auf Kaligabe mit einer augenblicklichen Assimilationserhöhung. Dabei bleiben Chlorophyllgehalt und Zellzahl zunächst unverändert, eine Zunahme des Chlorophylls erfolgt erst längere Zeit nach der Zugabe von Kalium zur Mangelkultur. Mit steigendem Kalimangel nimmt die Momentan-Anregbarkeit der Photosynthese zu. Sie erlischt, wenn der Kalimangel Assimilation und Zellvermehrung stillgelegt hat.
4. Die Atmung von Kalimangelchlorellen ist mehr oder weniger gesteigert. Sie sinkt sofort nach Kaligabe ungefähr auf den Normalbetrag ab.
5. Die momentane Anregung der Assimilation von K-Mangelzellen durch Kalium findet bei hoher und niedriger Lichtintensität statt.
6. In seiner anregenden Wirkung auf den Assimilationsapparat der Kalimangelzellen ist das Kalium-Ion durch Na-Ion nicht zu ersetzen.
7. Der Momentananstieg der Assimilation bei Kaligaben wird diskutiert und die Ansicht ausgesprochen, daß die primäre Wirkung des Kaliums auf einer Beeinflussung der kolloidalen Strukturen des photosynthetischen Apparates beruht. Veränderungen in Eiweißhaushalt und Chlorophyllbildung folgen danach dieser primären Ionenwirkung erst als Sekundärprozesse.

8. Auch Nitratmangelzellen können trotz erheblicher Chlorose bei Nitratzufuhr einen Momentananstieg der Photosynthese ausführen. Die Atmung läßt dabei, im Gegensatz zu den entsprechenden Versuchen bei Kalimangel, einen Anstieg erkennen.
9. Bei der Momentan-Anregung wirkt das Nitrat nicht allein als N-Quelle, sondern wahrscheinlich, wie das Kalium, auch als Ion. Es kann durch das Ammonium-Ion bei der Anregung nicht ersetzt werden.
10. Entsprechend der Stärke der Chlorose ist bei Nitratzufuhr zu Mangelzellen die Tendenz zur Chlorophyllneubildung größer als bei Kalizusatz zu Kalimangelzellen.
11. Kalimangelzellen zeigen eine verringerte Zellteilungsrate, Nitratmangelzellen zunächst nicht. Erstere sind daher verhältnismäßig groß, die letzteren sehr klein.
12. Manganmangelzellen von Chlorella lassen keine Chloroseerscheinungen erkennen. Ihre Assimilation ist gehemmt und kann durch Mangangabe augenblicklich gesteigert werden.
13. Ein starker Antagonismus K : Mn wurde festgestellt. Die für die Entwicklung notwendige Mn-Konzentration liegt unter den gewählten Versuchsbedingungen bei niederen Kaligaben etwa bei 10^{-9}, bei hohen Kaligaben etwa bei 10^{-7} mol Mn.
14. Im Bereich hoher Konzentrationen wirken auch Natrium und Calcium gegenüber Mangan antagonistisch.
15. Calcium scheint oberhalb des p_H-Wertes 4,5 für Chlorella entbehrlich zu sein; unterhalb dieses Wertes dient es zur Entgiftung der $H^{\cdot}$-Ionen.

Schriftenverzeichnis.

Alten, F., und Goeze, G., Versuche über die Wirkung des Kaliums auf die Kohlensäureaufnahme von Weizenblättern. Ernähr. d. Pflanz. 1937. **33**, 21.

—, Weiland, H., und Kurmies, B., Vergleichende Untersuchungen zur kolorimetrischen Kaliumbestimmung. Zeitschr. f. Pflanzenernähr., Düng. u. Bodenkde. 1933. A **32**, 171.

Arens, K., Physiologisch polarisierter Massenaustausch und Photosynthese bei submersen Wasserpflanzen. I. Planta. 1933. **20,** 621.

Bertrand, G., und Rosenblatt, M., Sur la teneur inégale en manganèse des feuilles vertes et des feuilles étiolées. Bull. Soc. Sc. Hyg. Alim. 1932. **20,** 228.

Bishop, W. B. S., The distribution of manganese in plants and its importance in plant metabolism. Austr. Journ. Exp. Biol. and Med. Res. 1928. **5,** 125.

Bungenberg de Jong, H. Gg., und de Haan, A., Zur Kenntnis der Komplexkoazervation. XX. Biochem. Zeitschr. 1933. **263,** 33.

Ehrke, G., Die Assimilation in ihrer Abhängigkeit vom Licht, von der Temperatur, der Kohlensäuremenge und der Zeit. Int. Revue Hydrobiol. 1934. **31,** 373.

Emerson, R., The effect of certain respiratory inhibitors on the respiration of chlorella. Journ. Gen. Physiol. 1927. **10,** 469.

—, The relation between maximum rate of photosynthesis and concentration of chlorophyll. Journ. Gen. Physiol. 1929. **12,** 609.

—, The effect of intense light on the assimilatory mechanism of green plants, and its bearing on the carbon dioxide factor. Cold Spring Harbour Sympos. Quant. Biol. 1935. **3,** 128.

—, and Arnold, W., A separation of the reactions in photosynthesis by means of intermittent light. Journ. Gen. Physiol. 1932. **15,** 391.

Ewart, A. J., On assimilatory inhibition in plants. Journ. Linnean Soc. Bot. 1895/96. **31,** 364, 389.

Fleischer, W., The relation between chlorophyll content and rate of photosynthesis. Journ. Gen. Physiol. 1935. **18,** 573.

Freundlich, H., Kapillarchemie. Leipzig 1932.

Gaßner, G., und Franke, W., Der Stickstoffhaushalt junger Weizenpflanzen in seiner Abhängigkeit von der Mineralsalzernährung. Phytopath. Zeitschr. 1934. **7,** 187.

—, und Goeze, G., Assimilationsverhalten, Chlorophyllgehalt und Transpirationsgröße von Getreideblättern, mit besonderer Berücksichtigung der Kali- und Stickstoffernährung. Zeitschr. f. Bot. 1934. **27,** 257.

Gregory, F. G., and Richards, F. J., Physiological studies in plant nutrition. I. The effect of manurial deficiency on the respiration and assimilation rate in barley. Ann. of Bot. 1933. **43,** 119.

Harder, R., Über die Assimilation von Kälte- und Wärme-Individuen derselben Pflanzenspezies. Jahrb. wiss. Bot. 1924. **64,** 169.

—, Über die Assimilation der Kohlensäure bei konstanten Außenbedingungen. I. Planta. 1930. **11,** 263.

—, II. Das Verhalten von Sonnen- und Schattenpflanzen. Planta. 1933. **20,** 699.

Hartt, C. E., Some effects of potassium upon the growth of sugar cane and upon the absorption and migration of ash constituents. Plant Physiol. 1934. **9,** 399.

Hopkins, E. F., The necessity and function of manganese in the growth of Chlorella spec. Science. 1930. **72,** 609.

—, Manganese an essential element for green plants. Cornell Univ. Agr. Exp. Stat. Mem. 1934. **151,** 1.

—, and Wann, F. B., The effect of the H-ion concentration on the availability of iron for Chlorella spec. Journ. Gen. Physiol. 1926. **9,** 205.

Lemmermann, O., und Liesegang, H., Über die Beziehungen zwischen Kalidüngung und Lichtwirkung. Zeitschr. f. Pflanzenernähr., Düng. u. Bodenkde. 1930. B **9,** 256.

Lundegårdh, H., Die Nährstoffaufnahme der Pflanze. Jena 1932.

McHargue, J. S., The rôle of manganese in plants. Amer. Chem. Soc. Journ. 1922. **44,** 1592.

Menke, W., Chloroplastenstudien. 2. Mitt. Protoplasma. 1934. **22,** 56.

Mevius, W., Kalzium-Ion und Wurzelwachstum. Jahrb. f. wiss. Bot. 1927. **66,** 183.

Miller, L. P., Effect of manganese deficiency on the growth and sugar content of plants. Amer. Journ. Bot. 1933. **20,** 621.

Müller, D., und Larsen, P., Analyse der Stoffproduktion bei Stickstoff- und Kalimangel. Planta. 1935. **23,** 501.

Noack, K., Untersuchungen über lichtkatalytische Vorgänge von physiologischer Bedeutung. Zeitschr. f. Bot. 1920. **12,** 273.

Olsen, C., The absorption of manganese in plants. Compt. rend. Trav. Labor. Carlsberg. 1934. **20,** Nr. 2.

van der Paauw, Zur Methodik der Kohlensäure-Assimilationsmessung. Planta. 1934. **22,** 393.

Penston, N. L., Studies of the physiological importance of mineral elements in plants. III. A study by microchemical methods of the distribution of potassium in the potato plant. Ann. of Bot. 1931. **45,** 673.

Plester, W., Kohlensäureassimilation und Atmung bei Varietäten derselben Art, die sich durch ihre Blattfärbung unterscheiden. Beitr. z. Biol. d. Pflanz. 1912. **11,** 249.

Pringsheim, E. G., Über das Ca-Bedürfnis einiger Algen. Planta. 1926. **2,** 555.

Russell, J., »Kali und Landwirtschaft«, Vorträge, gehalten auf dem 7. Kalitag zu Berlin. 1928. 75.

Scarth, S. W., Colloidal changes associated with protoplasmic contraction. Quart. Journ. Exp. Physiol. 1924. **14,** 99.

Scharrer, K., und Schropp, W., Über die Wirkung des Kaliumions bei mangelnder Lichtversorgung. Zeitschr. f. Pflanzenernähr., Düng. u. Bodenkde. 1934. A **35,** 185.

—, —, Zur Frage der gegenseitigen Beeinflussung von Kalium- und Natrium-Ionen in ihrer Wirkung auf das Pflanzenwachstum. Ernährg. d. Pflanz. 1935. **31,** 301.

Schmalfuß, K., Beobachtungen über Wasserhaushalt und Wasserverbrauch von kalimangelndem Hafer. Zeitschr. f. Pflanzenernährg., Düng. u. Bodenkde. 1934. A **33**, 28.

—, Das Kalium. Naturwiss. u. Landwirtsch., Heft 19. Freising-München 1936.

Schramm (nach Hopkins), Paper presented before the Botanical Society of America Boston Meeting. 1922.

Snow jr., A. G., Transpiration as modified by potassium. Plant Physiol. 1936. **11**, 583.

Urhan, O., Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffassimilation von Chlorella und Scenedesmus. Jahrb. f. wiss. Bot. 1932. **65**, 1.

de Vries, H., Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft. Jahrb. f. wiss. Bot. 1884. **14**, 427.

Warburg, O., Die katalytischen Wirkungen der lebendigen Substanz. Berlin. 1928.

Warén, H., Über die Rolle des Kalziums im Leben der Zelle auf Grund von Versuchen an Micrasterias. Planta. 1933. **19**, 1.

Waris (Warén), H., Über das Ca-Bedürfnis der niederen Algen. Planta. 1936. **25**, 315.

Wehner, O., Untersuchungen über die chemische Beeinflußbarkeit des Assimilationsapparates. Planta. 1928. **6**, 543.

Weiss, J., Some remarks on the photosynthesis of green plants. Journ. Gen. Physiol. 1937. **20**, 501.

Willstätter, R., und Stoll, A., Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin. 1918.

Lebenslauf.

Ich wurde am 26. März 1910 in Erlangen als Sohn des dortigen Universitätsprofessors Dr. Julius Pirson und seiner Frau Anna, geb. Ewald, geboren. Nach Besuch der Volksschule und des humanistischen Gymnasiums meiner Heimatstadt, das ich im Jahre 1927 mit dem Zeugnis der Reife verließ, studierte ich zunächst an der Universität Erlangen Chemie und legte im Jahre 1931 die Verbandsprüfung für Chemiker ab. Danach studierte ich Biologie, im besonderen Botanik, an der Universität Berlin, wo ich vor allem durch Herrn Professor Dr. Kurt Noack in die wissenschaftliche Arbeit eingeführt wurde. Seit Juli 1933 verwalte ich am Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Berlin eine planmäßige Assistentenstelle.

Fürstl. priv. Hofbuchdruckerei (F. Mitzlaff) Rudolstadt